No d'ordre :

THESES

presentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

pour obtenir le grade de

Docteur ès Sciences Physiques

par

Jacques LANG

Première thèse :

Recherches sur l'absorption ultrasonore dans des solutions de Polyméthacrylate de méthyle et d'acide Désoxyribonucléique

Deuxième thèse :

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 17 juin 1968 devant la commission d'examen

MM. H. BENOIT Président
R. CERF Examinateur
C. ROBERT »
C. SADRON Invité d'Honneur

No d'ordre :

THESES

presentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

pour obtenir le grade de

Docteur ès Sciences Physiques

par

Jacques LANG

Première thèse :

Recherches sur l'absorption ultrasonore dans des solutions de Polyméthacrylate de méthyle et d'acide Désoxyribonucléique

Deuxième thèse :

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 17 juin 1968 devant la commission d'examen

MM. H. BENOIT Président
R. CERF Examinateur
C. ROBERT »
C. SADRON Invité d'Honneur

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

U N I V E R S I T E D E S T R A S B O U R G

F A C U L T E D E S S C I E N C E S

Doyen : Professeur J.H.VIVIEN
Doyens Honoraires : A.KIRRMANN, P.LACROUTE, H.J.MARESQUELLE, G.MILLOT
Professeurs Honoraires : P.DE BEAUCHAMP, L.BOISSELET, H.CARTAN, G.CERF, C.CHABAUTY, A.CHRETIEN, J.DENY, Ch.EHRESMANN, M.FRECHET, Mle S.GILLET, A.HEE, R.HOCART, A.KIRRMANN, G.LEMEE, P.L'HERITIER, A.LICHNEROWICZ, L.NEEL, Ch.SADRON, E.TERROINE, R.THIRY, H.VILLAT, H.WEISS, Et.WOLFF, J.YVON.

Maître de Conférences Honoraire : R. WEIL

Professeurs :

H.J.MARESQUELLE	T.	Biologie végétale
A.ROUSSEL	T.	Calcul différentiel et intégral et théorie des fonctions
H.FORESTIER	T.	Chimie générale
J.ROTHE	T.	Physique du Globe
P.LACROUTE	T.	Astronomie
J.H.VIVIEN	T.	Zoologie etEmbryologie expérimentale
A.MAILLARD	T.	Physicochimie du Pétrole
S.GORODETZKY	T.	Physique générale et physique nucléaire
L.SACKMANN	T.	Mécanique des Fluides
J.BYE	T.	Chimie Physique
R.LOMBARD	T.	Chimie organique
Mle M.PEREY	T.	Chimie nucléaire
S.GOLDSZAUB	T.	Minéralogie et Pétrographie
P.JOLY	T.	Biologie générale
H.BENOIT	T.	Physicochimie macromoléculaire
P.CUER	T.	Physique générale et physique corpusculaire
G.MILLOT	T.	Géologie et Paléontologie
R.LECOLAZET	T.T.P.	Physique du Globe
H.SAUCIER	T.T.P.	Minéralogie
R.ROHMER	T.	Chimie minérale
Mle A.GAGNIEU	T.T.P.	Botanique
S.NIKITINE	T.	Physique générale
F.STUTINSKY	T.	Physiologie générale
B.WURTZ	T.T.P.	Chimie biologique
J.BRENET	T.	Electrochimie
G.OURISSON	T.T.P.	Chimie
A.COCHE	T.T.P.	Physique nucléaire
R.CERF	T.	Physique générale
J.FRENKEL	T.T.P.	Mathématiques
P.TAGLANG	T.	Physique
J.P.LONGCHAMP	T.T.P.	Physique
A.DELUZARCHE	T.T.P.	Chimie
J.B.DONNET	T.T.P.	Chimie physique
R.ARMBRUSTER	T.T.P.	Physique
A.ROCHE	T.T.P.	Physique du Globe
L.HIRTH	T.	Microbiologie
A.SIGOT	P.S.C.	Zoologie
J.COGNE	T.T.P.	Géologie
A.FUCHS	T.	Mécanique rationnelle
A.GALLMANN	T.T.P.	Physique

P.MIALHE	T.T.P.	Physiologie animale
J.P.EBEL	T.	Chimie biologique
J.PARROD	T.T.P.	Chimie
R.WEY	T.T.P.	Chimie
Mme D.MAGNAC	T.T.P.	Physique
M.DAUNE	P.S.C.	Physique
J.P.ADLOFF	T.T.P.	Chimie nucléaire
D.BERNARD	T.T.P.	Méthodes mathématiques de la physique
M.ZISMAN	T.T.P.	Mathématiques
E.DANIEL	T.	Physique expérimentale
P.CHEVALLIER	T.	Physique
J.GREMILLARD	T.T.P.	Mécanique des Fluides
P.CARTIER	T.	Mathématiques
G.REEB	T.	Topologie
F.NORGUET	T.	Analyse supérieure
R.CHAUVIN	T.	Psychophysiologie
J.WUCHER	P.S.C.	Physique
Mme M.BRINI	P.S.C.	Chimie
G.PERNY	P.S.C.	Physique
R.BARO	P.S.C.	Physique
H.DURANTON	P.S.C.	Botanique
R.WEISS	T.T.P.	Chimie
P.FERDERLIN	T.T.P.	Chimie
J.LERAY	P.S.C.	Physique
J.P.SCHWING	P.S.C.	Chimie
M.SIESKIND	P.S.C.	Physique
G.MONSONEGO	T.	Physique théorique
P.GABRIEL	T.T.P.	Mathématiques
C.WIPPLER	T.	Physicochimie des Hauts Polymères Industriels
P.A.MEYER	T.T.P.	Mathématiques
G.WEILL	P.S.C.	Physique
J.M.BLOCH	T.	Chimie
A.CLAUSS	P.S.C.	Chimie
E.FOLLENIUS	P.S.C.	Zoologie
J.LUCAS	P.S.C.	Géologie
G.GLAESER	T.	Mathématiques
J.J.THIEBOLD	P.S.C.	Biologie animale
J.H.WEIL	P.S.C.	Chimie biologique
D.FORTA	P.S.C.	Mathématiques

Professeurs associés :

S.R. DE GROOT	Physique
R.MARCHESSAULT	Physicochimie macromoléculaire
G.LUMER	Mathématiques
R.MORIARTY	Chimie organique
J.AUSLANDER	Physique corpusculaire

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552712_0018

Maîtres de conférences

H. DANAN	Physique
Mme Ch.WINTER	Physique
J.P.EBERHART	Minéralogie
Mme D.GAGNIANT	Chimie
X.FERNIQUE	Mathématiques
J.STREITH	Chimie
F.GAUTIER	Physique propédeutique
G.SUTTER	Physique électronique
J.L.VERDIER	Mathématiques
J.M.LEHN	Chimie
Cl.ROBERT	Physique
M.LACROUTE	Biologie végétale
M.GOUNOT	Botanique
J.PRADINES	Mathématiques
A.GIRARDIE	Biologie animale
F.BECKER	Physique mathématique
J.DEHAND	Chimie minérale
Cl.GODBILLON	Mathématiques
M.KAROUBI	Mathématiques
A.MIGNOY	Mathématiques appliquées

Maîtres de conférences Associés

V.AVANISSIAN	Mathématiques

Secrétaire : G. SAINT-PE

Maîtres de conférences

H. DANAN	Physique
Mme Ch.WINTER	Physique
J.P.EBERHART	Minéralogie
Mme D.GAGNIANT	Chimie
X.FERNIQUE	Mathématiques
J.STREITH	Chimie
F.GAUTIER	Physique propédeutique
G.SUTTER	Physique électronique
J.L.VERDIER	Mathématiques
J.M.LEHN	Chimie
Cl.ROBERT	Physique
M.LACROUTE	Biologie végétale
M.GOUNOT	Botanique
J.PRADINES	Mathématiques
A.GIRARDIE	Biologie animale
F.BECKER	Physique mathématique
J.DEHAND	Chimie minérale
Cl.GODBILLON	Mathématiques
M.KAROUBI.	Mathématiques
A.MIGNOY	Mathématiques appliquées

Maîtres de conférences Associés

V.AVANISSIAN	Mathématiques

Secrétaire : G. SAINT-PE

A mes parents

A ma femme

A Monsieur Roger CERF

Ce travail a été effectué au Centre de Recherches sur les Macromolécules où Messieurs les Professeurs Charles SADRON et Henri BENOIT m'ont accueilli avec la plus grande bienveillance. Je leur exprime ici ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur Roger CERF qui a dirigé ce travail, a été pour moi un guide précieux. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance et mes plus vifs remerciements.

Je tiens à remercier également Monsieur P. REMPP dont les conseils ont été très utiles au cours de la préparation des échantillons de polyméthacrylate de méthyle ainsi que Monsieur J.POUYET qui a bien voulu mettre à ma disposition les échantillons d'acide désoxyribonucléique.

Il m'est agréable de remercier ici Monsieur P.LEMARECHAL pour l'aide que m'a apporté la technique impulsionnelle qu'il a montée au laboratoire.

J'adresse enfin mes remerciements à tous les membres du C.R.M. qui m'ont aidé au cours de ce travail, et particulièrement à Messieurs MEANNEL et PISTER dont le dévouement m'a été précieux.

TABLE DES MATIERES

pages

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE : ABSORPTION ULTRASONORE DANS DES SOLUTIONS DE POLYMETHACRYLATE DE METHYLE 6

CHAPITRE I. CRITERE DESTINE A METTRE EN EVIDENCE LE CARACTERE ANORMAL DE L'ABSORPTION 7

I. Introduction 7

II. Processus à deux temps de relaxation 7

1) Détermination des points d'inflexion 11

2) Variations de P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1} 12

III. Remarque relative à un processus à trois temps de relaxation 13

IV. Application du critère à certains spectres obtenus sur des solutions de hauts polymères 14

1) Cas des solutions benzéniques de polyméthacrylate de méthyle 14

2) Cas des solutions benzéniques de polyvinylisobutyléther 16

V. Mesures pour une solution de polyméthacrylate de méthyle 17

VI. Conclusion 20

CHAPITRE II. DEGRADATION ULTRASONORE SUR DES SOLUTIONS DE POLYMETHACRYLATE DE METHYLE 22

I. Introduction 22

II. Résultats 23

DEUXIEME PARTIE : ABSORPTION ULTRASONORE DANS DES SOLUTIONS D'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE 25

CHAPITRE I. DESCRIPTION DE L'APPAREILLAGE 26

I. Introduction 26
II. Dispositif expérimental 26
III. Transducteurs 27
IV. Cuve thermostatique 27
V. Support du réflecteur 29
VI. Plaque orientable 30
VII. Cryostat 31

CHAPITRE II. SPECTROSCOPIE ULTRASONORE 32

I. Introduction 32
II. Mesures d'absorption ultrasonore - Mélanges eau-glycérine 32
III. Solutions d'ADN 34
IV. Résultats 36

CHAPITRE III. ETUDE DE LA DENATURATION ALCALINE DE L'ADN 39

I. Introduction 39
II. Mesures d'absorption ultrasonore. Mélanges eau-glycérine 40
III. Solutions d'ADN 41
IV. Résultats 41

Remarque relative à la dénaturation acide 44

Conclusion aux chapitres II et III 45

CONCLUSION GENERALE 49

LEGENDES DES FIGURES 51

BIBLIOGRAPHIE 55

INTRODUCTION

Diverses anomalies dans les spectres ultrasonores des solutions de hauts polymères ont été récemment signalées[1-2-4-5] auxquelles est consacrée la plus grande partie du présent travail.

Rappelons en premier lieu que, pour une solution de polymère, on porte habituellement en fonction de la fréquence l'absorption spécifique $\alpha_{sp} = (\alpha-\alpha_o)/\alpha_o$, où α désigne l'absorption (pour l'amplitude de l'onde) de la solution, et α_o celle du solvant.

Dans la mesure du possible, on utilise des solvants pour lesquels α_o/N^2 (N étant la fréquence) est une constante dans le domaine de fréquence étudié ; autrement dit, on utilise un solvant qui ne présente pas de relaxation ultrasonore dans ce domaine. Cette condition sera réalisée dans tout ce qui suit. Dès lors toute variation de $(\alpha-\alpha_o)/\alpha_o$ en fonction de la fréquence doit être attribuée à une variation analogue du terme α/N^2, puisque l'on a :

$$\alpha_{sp} = \frac{\alpha-\alpha_o}{\alpha_o} = \frac{\alpha/N^2-\alpha_o/N^2}{\alpha_o/N^2} = \gamma\frac{\alpha}{N^2} - 1$$

où γ est la constante N^2/α_o.

Lorsque la solution présente un phénomène de relaxation (dû à la perturbation par l'onde de l'équilibre entre divers états énergétiques), la quantité α/N^2 est égale à un terme de relaxation proportionnel à $(1+4\pi^2\tau^2N^2)^{-1}$, où τ est un temps de relaxation, ou à la somme de tels termes. Dans ce cas, la décroissance de α/N^2 en fonction de N n'est jamais plus rapide que celle fournie par un seul terme de relaxation.

Les mesures qu'on vient de citer ont été réalisées à l'aide d'un interféromètre ultrasonore, en employant la méthode dite à fréquence continûment variable [1-4-6-7] qui permet d'effectuer les mesures en dehors des fréquences de résonance.

Les anomalies signalées sont de deux sortes :

1) Pour les solutions de polymères vinyliques des décroissances plus rapides de α_{sp} en fonction de N, que celles résultant d'un terme de relaxation unique ont été signalées, soit que le spectre présente une seule décroissance, comme dans le cas du polystyrène, soit qu'il présente deux décroissances successives, comme dans le cas du polyméthacrylate de méthyle (PMM).

2) Pour des solutions d'acide désoxyribonucléique (ADN), des maxima de α_{sp} en fonction de N ont même été signalés.

Les polymères vinyliques ont fait l'objet d'études très nombreuses, portant notamment sur l'influence, sur le spectre ultrasonore, de divers paramètres, tels que la nature du polymère, la concentration,la masse moléculaire, la tacticité, la nature du solvant.

Nous avons cherché à donner un critère aussi sûr que possible permettant de décider si le spectre d'une solution d'un polymère vinylique est normal ou non (au sens défini ci-dessus).

Lorsque le spectre expérimental ne présente qu'une décroissante en fonction de N on peut déterminer s'il est compatible ou non avec un processus de relaxation en le comparant à une courbe à un temps de relaxation. Les conclusions sont

d'autant plus valables que la courbe expérimentale a été déterminée dans un domaine de fréquence plus étendu, notamment du côté des basses fréquences. Or, d'une part, aucune valeur de l'absorption n'a pu être déterminée, dans les cas qui nous intéressent ici, à des fréquences inférieures à 1 MHz, et d'autre part les valeurs mesurées aux fréquences les plus basses, ne sont pas connues avec une précision suffisante pour qu'une extrapolation à fréquence nulle soit possible. Par contre, comme nous allons le montrer, pour les spectres présentant deux décroissances il est possible d'établir un critère de comparaison qui ne dépende que des rapports de deux pentes d' inflexion et des deux fréquences inflexionnelles correspondantes. Il semble que ce critère permette plus facilement de conclure à partir des données expérimentales obtenues dans le domaine de fréquence actuellement exploitable.

Le critère en question sera appliqué à certains des spectres donnés dans les travaux qu'on vient de citer. Nous l'appliquerons également à un spectre que nous avons déterminé de notre côté, en prenant des précautions particulières que nous décrirons. Il s'agit d'un spectre obtenu sur une solution benzénique de polyméthacrylate de méthyle, solution pour laquelle on obtient habituellement deux décroissances de α_{sp} en fonction de N.

D'autre part, dans le cas de l'ADN seules des mesures préliminaires ont été effectuées, et cela dans des conditions particulièrement difficiles, puisqu'on opérait dans une chambre froide à 5°C. Ce mode opératoire avait été adopté pour éviter les gradients thermiques causant des dérèglages qui apparaissaient entre la cuve de mesure maintenue à 5°C et le reste de l'appareillage se trouvant à la température ambiante.

Nous avons étudié à nouveau l'absorption ultrasonore de solutions d'ADN, et nous avons commencé par apporter un certain nombre de modifications à l'interféromètre couramment utilisé au laboratoire, de telle sorte que les mesures à 5°C puissent être effectuées dans une pièce à température ambiante.

En plus des études précédentes, portant plus spécialement sur le caractère anormal des spectres des solutions de hauts polymères, nous avons effectué diverses mesures destinées soit à préciser la nature des effets en cause, soit à montrer les possibilités des techniques ultrasonores dans le domaine des polymères biologiques.

1) Les premières mesures sur les polymères vinyliques, notamment les PMM, montrèrent que les spectres ultrasonores sont sensibles à la structure locale du polymère et en particulier à la stéréorégularité, mais semblèrent également indiquer une influence de la masse moléculaire.

L'hypothèse fut ensuite avancée [8] que l'effet de la masse moléculaire pouvait n'être qu'apparente et traduire, au moins partiellement, une différence de structure locale des polymères de masses différentes. C'est pourquoi nous avons dégradé diverses molécules de PMM et nous avons comparé leur spectre ultrasonore avant et après dégradation.

2) Nous avons par ailleurs suivi la dénaturation alcaline de l'ADN par des mesures d'absorption ultrasonore ; nous montrerons que de telles mesures sont susceptibles de présenter un intérêt particulier pour l'étude de cette dénaturation.

Dans l'exposé nous avons séparé les études relatives au PMM et à l'ADN.

La première partie, consacrée au PMM, contient la description du critère permettant de décider si un spectre présentant deux décroissances doit être considéré comme anormal ; ce critère sera appliqué à certains spectres obtenus jusqu'à présent, et notamment à celui que nous avons déterminé en prenant des précautions particulières (chapitre I). Cette première partie contient également les résultats de nos expériences de dégradation ultrasonore (chapitre II).

La seconde partie, consacrée à l'ADN, comprend la description de l'appareillage adapté aux conditions particulières de mesures pour cette macromolécule (chapitre I), les résultats de spectroscopie ultrasonore (chapitre II), et ceux concernant la dénaturation alcaline (chapitre III).

PREMIERE PARTIE

ABSORPTION ULTRASONORE DANS DES SOLUTIONS BENZENIQUES DE POLYMETHACRYLATE DE METHYLE.

-=-=-=-=-=-=-=-

CHAPITRE I

CRITERE DESTINE A METTRE EN EVIDENCE LE CARACTERE ANORMAL DE L'ABSORPTION

I. INTRODUCTION

L'addition de deux termes de relaxation ou plus, donne dans certains cas deux décroissances successives de la quantité α/N^2 en fonction de N. Ces deux décroissances présentent chacune un point d'inflexion. Nous montrerons d'abord que les rapports des fréquences inflexionnelles et les rapports des pentes en ces points satisfont nécessairementà certaines conditions. Nous verrons ensuite que les spectres expérimentaux présentant deux décroissances, obtenus précédemment sur des solutions de hauts polymères (notamment sur des solutions benzéniques de PMM) ne satisfont pas à ces conditions, et sont donc incompatibles avec de tels processus. Nous donnerons enfin le spectre d'absorption d'une solution benzénique de PMM que nous avons déterminé, en prenant des précautions particulières que nous décrirons ; ce spectre confirme les résultats obtenus antérieurement.

II. SPECTRE D'UN PROCESSUS A DEUX TEMPS DE RELAXATION

Nous nous intéresserons donc d'abord au spectre que l'on obtient en superposant deux processus de relaxation. Ce spectre est donné par la relation :

$$y = \frac{\alpha}{N^2} = \frac{A_1}{1+ (N/N_{r_1})^2} + \frac{A_2}{1+ (N/N_{r_2})^2} + B \qquad (1)$$

où A_1, A_2 et B sont des constantes indépendantes de la fréquence ; B est la valeur de y quand N tend vers l'infini. N_{r_1} et N_{r_2} sont les fréquences de relaxation des deux processus de relaxation.

Pour éviter par la suite de confondre les variations de α/N^2 en fonction de N données par la relation (1) avec les variations obtenues expérimentalement, nous appelerons y la quantité représentée par la relation (1) et nous réserverons $\alpha/_N{}^2$ pour les résultats expérimentaux.

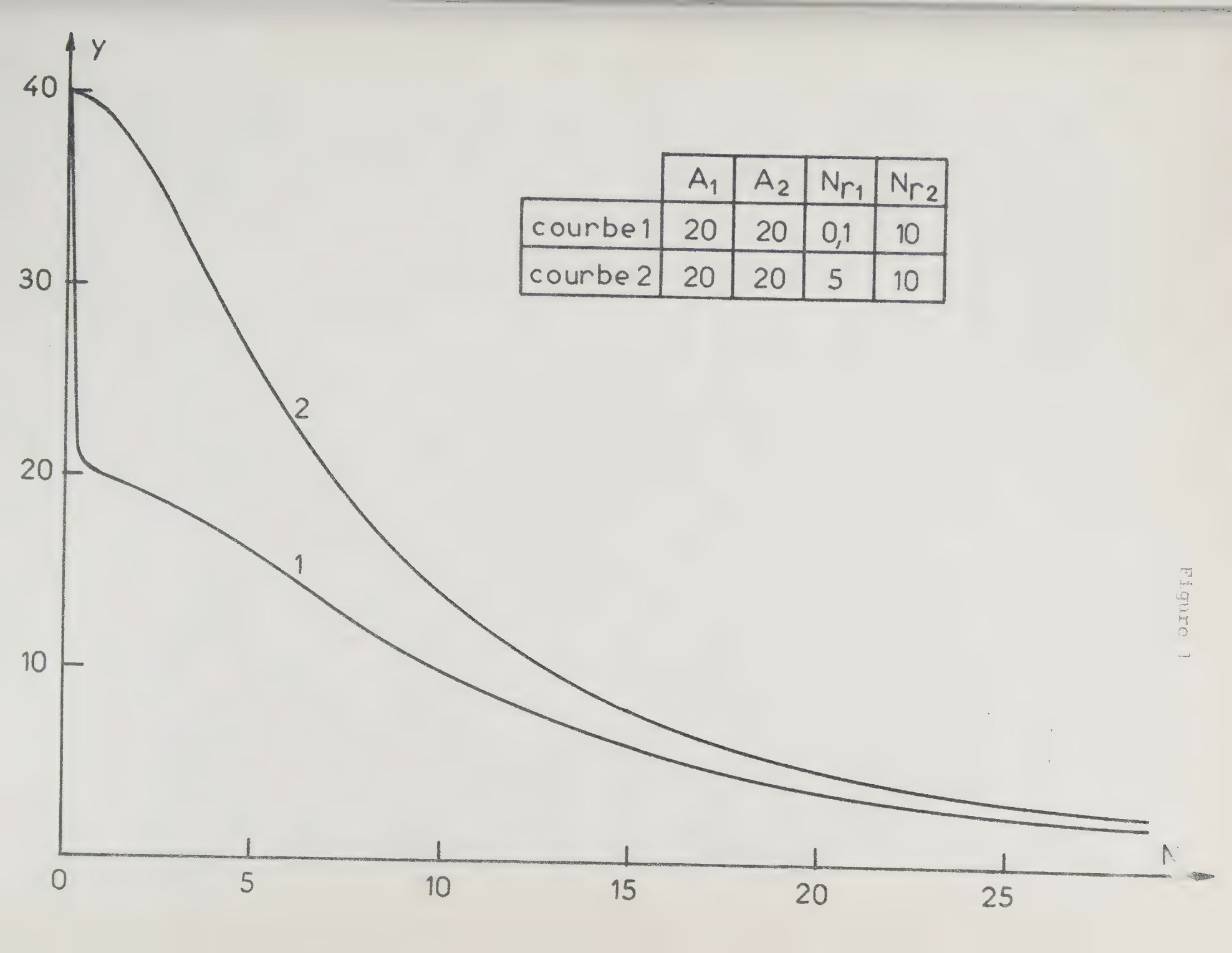
Notons tout d'abord que les courbes donnant la variation y = f(N) se divisent en deux catégories.

La première est composée des courbes qui font apparaître deux décroissances successives. Ces courbes présentent trois points d'inflexion.

La seconde catégorie est composée des courbes qui ne font apparaître qu'une seule décroissance. Ces courbes présentent soit un point d'inflexion, soit un point d'inflexion et un méplat (point pour lequel la dérivée seconde est nulle, mais où la courbe ne coupe pas la tangente).

La courbe y=f(N) appartient à l'une ou à l'autre de ces deux catégories selon les valeurs données à A_1, A_2, N_{r_1} et N_{r_2}, comme le montre les exemples des figures 1 et 2 pour lesquelles nous avons pris B=0.

Les courbes de la figure 1 ont été obtenues pour $A_1/A_2=1$. Pour la courbe 1, $N_{r_2}/N_{r_1}= 100$; pour la courbe 2, $N_{r_2}/N_{r_1}= 2$. Cette dernière courbe montre que si l'on choisit pour les fréquen-



	A_1	A_2	N_{r1}	N_{r2}
courbe 1	20	20	0,1	10
courbe 2	20	20	5	10

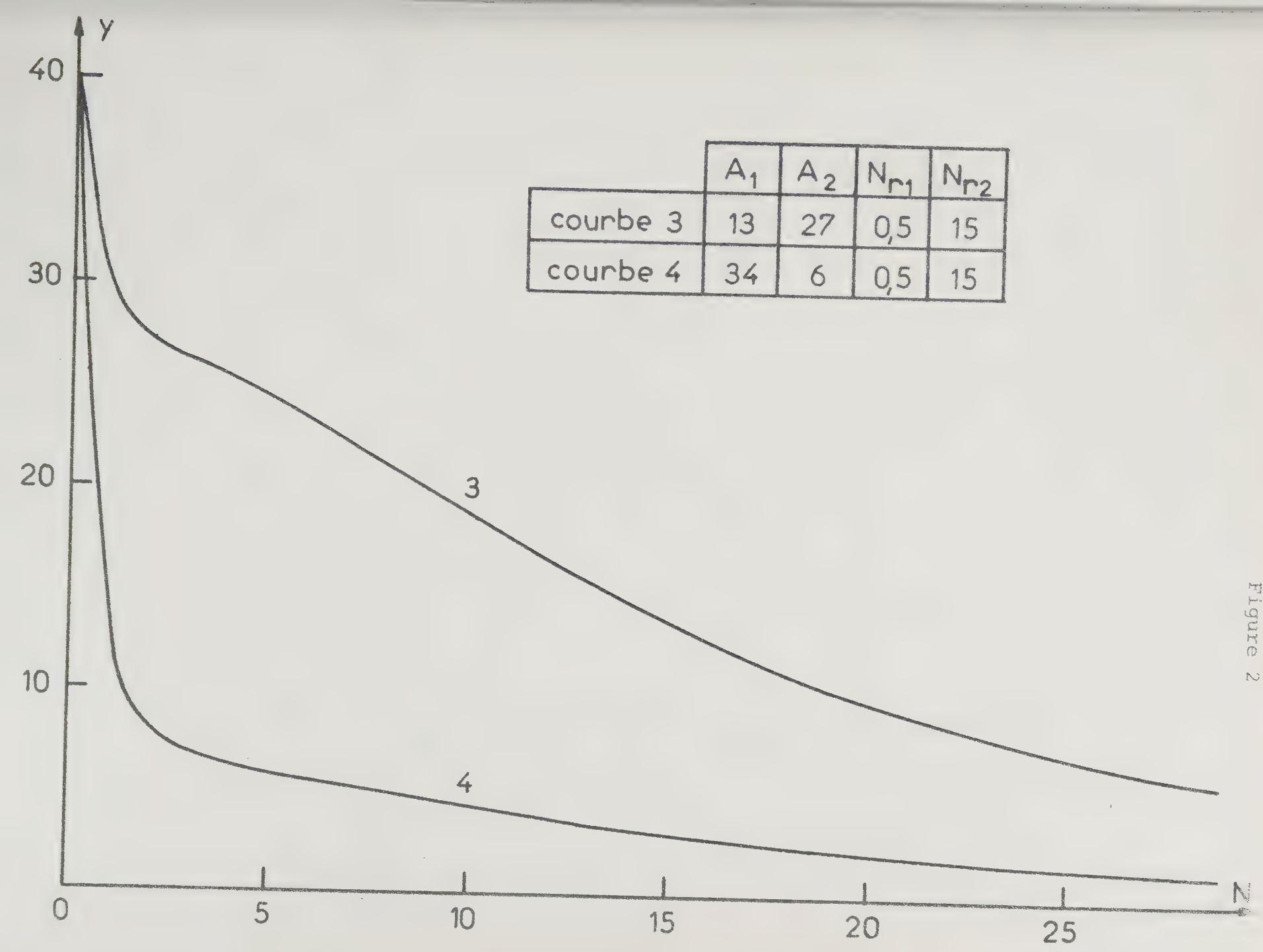
Figure 1

ces de relaxation des valeurs suffisamment proches, une seule décroissance apparaît.

Les courbes de la figure 2 ont été obtenues pour N_{r_2}/N_{r_1}=30. Pour la courbe 3, A_1/A_2 = 13/27 ; pour la courbe 4, A_1/A_2 = 34/6. Cette dernière courbe montre qu'en choisissant un rapport d'amplitude A_1/A_2 suffisamment élevé la courbe ne présente qu'une seule décroissance.

Ces exemples indiquent que pour un rapport d'amplitude A_1/A_2 donné, la courbe présente trois points d'inflexion seulement pour certaines valeurs de N_{r2}/N_{r1}. De même pour un rapport N_{r_2}/N_{r_1} donné, seules certaines valeurs du rapport A_1/A_2 permettent d'obtenir une courbe présentant trois points d'inflexion.

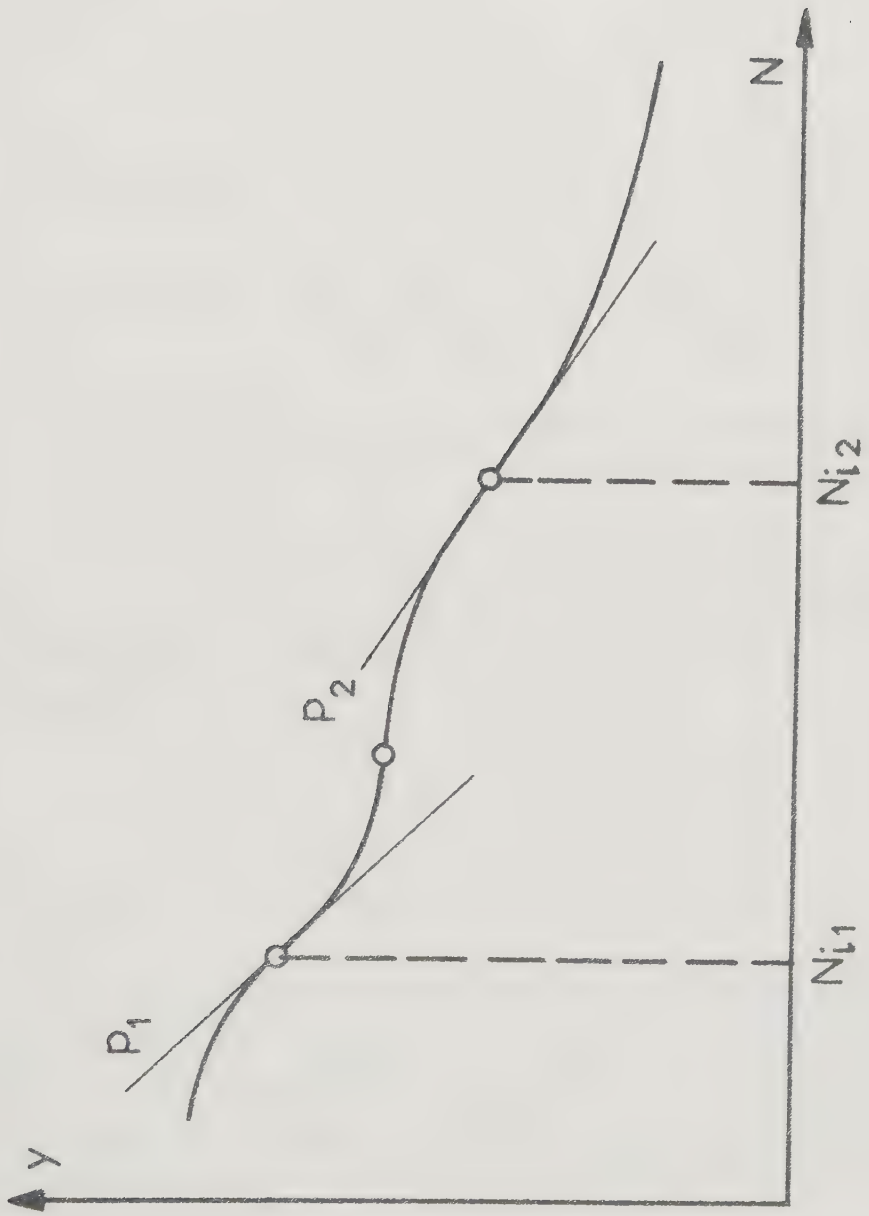
A partir d'un spectre expérimental il n'est pas possible de déterminer A_1, A_2, N_{r_1} et N_{r_2}. Par contre, il est possible de déterminer une fréquence d'inflexion et la pente à cette fréquence. En particulier, pour les spectres expérimentaux présentant deux décroissances qui nous intéressent ici, il est possible de déterminer le rapport de deux fréquences inflexionnelles et le rapport des pentes à ces fréquences ; par conséquent ce sont ces quantités que nous allons étudier sur la courbe $y = f(N)$. Nous allons donc d'abord établir les conditions sur A_1, A_2, N_{r_1} et N_{r_2} pour que la courbe $y = f(N)$ présente trois points d'inflexion . Nous montrerons ensuite que le rapport entre la première et la troisième fréquence inflexionnelle et le rapport des pentes à ces fréquences obéissent également à certaines conditions. Nous appelerons (figure 3) N_{i_1} la première fréquence inflexionnelle, N_{i_2} la troisième, et P_1 et P_2 les pentes à ces fréquences.



	A_1	A_2	N_{r1}	N_{r2}
courbe 3	13	27	0,5	15
courbe 4	34	6	0,5	15

Figure 2

Figure 3



Les pentes aux points d'inflexion sont données par la valeur de la dérivée de y en ces points. Celle-ci est égale à :

$$y' = -2N \left(\frac{A_1 N_{r_1}^2}{(N_{r_1}^2 + N^2)^2} + \frac{A_2 N_{r_2}^2}{(N_{r_2}^2 + N^2)^2} \right) \qquad (2)$$

Les valeurs des fréquences inflexionnelles sont les racines de la dérivée seconde de y. Celle-ci est égale à :

$$y'' = -2 \left(\frac{A_1 N_{r_1}^2 (N_{r_1}^2 - 3N^2)}{(N_{r_1}^2 + N^2)^3} + \frac{A_2 N_{r_2}^2 (N_{r_2}^2 - 3N^2)}{(N_{r_2}^2 + N^2)^3} \right) \qquad (3)$$

Les remarques suivantes nous ont permis de faire certaines simplifications :

a) Puisque nous nous intéresserons au rapport des pentes P_1/P_2 et que celui-ci est indépendant des échelles utilisées, nous avons normé à 1 l'amplitude totale à fréquence nulle en posant :

$$A_1 = 1-A$$

$$A_2 = A$$

et nous avons fait varier A de 0 à 1.

b) Par ailleurs puisque nous ne tiendrons compte également que du rapport N_{i2}/N_{i1}, et non pas des valeurs de N_{i2} et N_{i1} séparément, nous avons déterminé les points d'inflexion à partir de la dérivée seconde en posant $N_{r_2} = 1$ et nous avons fait varier N_{r_1} de 0 à 1.

A la suite de ces remarques les équations (2) et (3) deviennent :

$$y' = -2N\left(\frac{(1-A)N_{r1}^{2}}{(N_{r1}^{2}+N^{2})^{2}} + \frac{A}{(1+N^{2})^{2}}\right) \qquad (2)'$$

$$y'' = -2\left(\frac{(1-A)N_{r1}^{2}\,(N_{r1}^{2}-3N^{2})}{(N_{r1}^{2}+N^{2})^{3}} + \frac{A(1-3N^{2})}{(1+N^{2})^{3}}\right) \qquad (3)'$$

Le calcul consistera donc:

a) à déterminer d'abord les fréquences d'inflexion de la courbe y=f(N) pour les différentes valeurs de A et de N_{r_1},

b) et à calculer ensuite, dans les cas où la courbe y=f(N) présente deux décroissances successives, les valeurs du rapport P_1/P_2 pour les différentes valeurs de N_{i2}/N_{i1}.

1) Détermination des points d'inflexion

Pour chaque valeur de A nous avons cherché les racines de la dérivée seconde y" pour différentes valeurs de N_{r1}. La détermination de ces racines a été effectuée en utilisant la calculatrice électronique Olivetti "Programma 101".

Sur la figure 4 nous avons porté certains des résultats. Cette figure donne les valeurs des fréquences inflexionnelles N_i pour différentes valeurs de A et de $1/N_{r1}$.

Il apparait sur cette figure que pour une valeur de A donnée la variation de N_i en fonction de $1/N_{r1}$ est représentée par une courbe à deux branches.

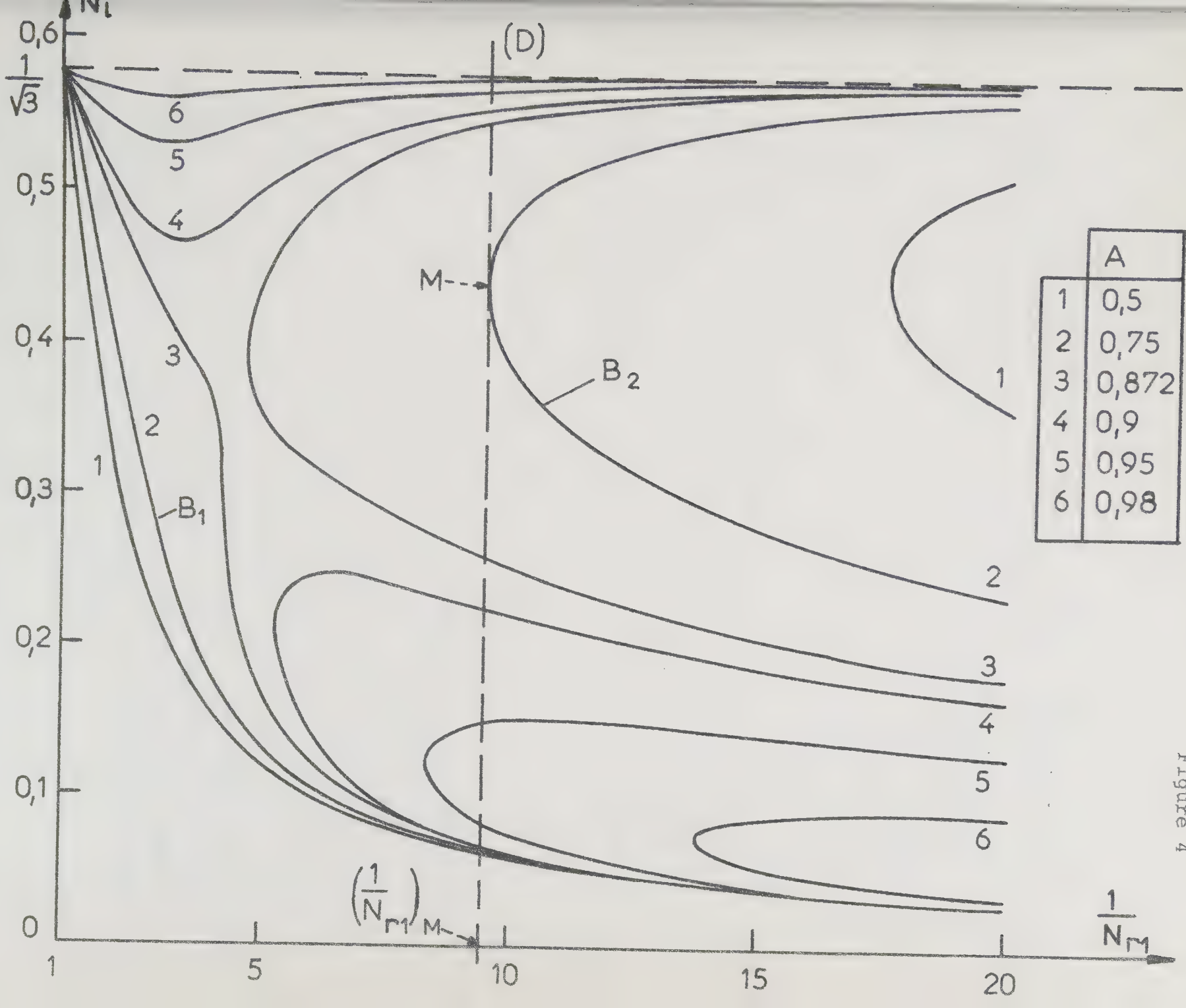

N_i
0,6
$\frac{1}{\sqrt{3}}$
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
(D)
M
B_1
B_2
1
2
3
4
5
6
$\left(\frac{1}{N_{r1}}\right)_M$
$\frac{1}{N_{r1}}$
1
5
10
15
20
A
1 0,5
2 0,75
3 0,872
4 0,9
5 0,95
6 0,98

Figure 4

Prenons l'exemple A=0,75. Les deux branches de cette courbe sont appelées B_1 et B_2 sur la figure 4. Traçons la parallèle D à l'axe des N_i et faisons varier l'abscisse $1/N_{r1}$ de la droite D de un à l'infini. Cette droite coupe d'abord B_1 seulement ; la courbe y=f(N) ne présente dans ce cas qu'un point d'inflexion. Pour une certaine valeur de $1/N_{r1}$, appelée $(1/N_{r1})_M$, la droite D coupe encore B_1 mais en plus elle est tangente à B_2 au point M ; la courbe y=f(N) présente alors un point d'inflexion et un méplat (M). Pour les valeurs de $1/N_{r1}$ supérieures à $(1/N_{r1})_M$ la droite D coupe à la fois B_1 et B_2 en 2 points ; la courbe y=f(N) présente dans ce cas trois points d'inflexion. Quelque soit la valeur de A nous obtenons un résultat analogue, la courbe y=f(N) présente selon la valeur de N_{r1}, trois ou un point d'inflexion, ou encore un point d'inflexion et un méplat. Nous retrouvons là le résultat annoncé à l'aide des exemples des figures 1 et 2.

2) Variations de P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1}

Connaissant la valeur des fréquences inflexionnelles N_i pour différentes valeurs de A et de N_{r1} nous avons ensuite déterminé les pentes P_1 et P_2 aux points d'inflexion en portant les quantités N_{i1} et N_{i2} dans l'expression de la dérivée première de y. Ces calculs ont également été effectués en utilisant la calculatrice électronique Olivetti "Programma 101". Sur la figure 5 nous avons porté, pour différentes valeurs de A, les rapports P_1/P_2 en fonction des rapports N_{i2}/N_{i1} correspondants. Cette figure montre que si la courbe y=f(N) présente deux décroissances, alors nécessairement les points représentatifs des rapports P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1} se trouvent à l'intérieur du domaine D compris entre les courbes C_1 et C_2.

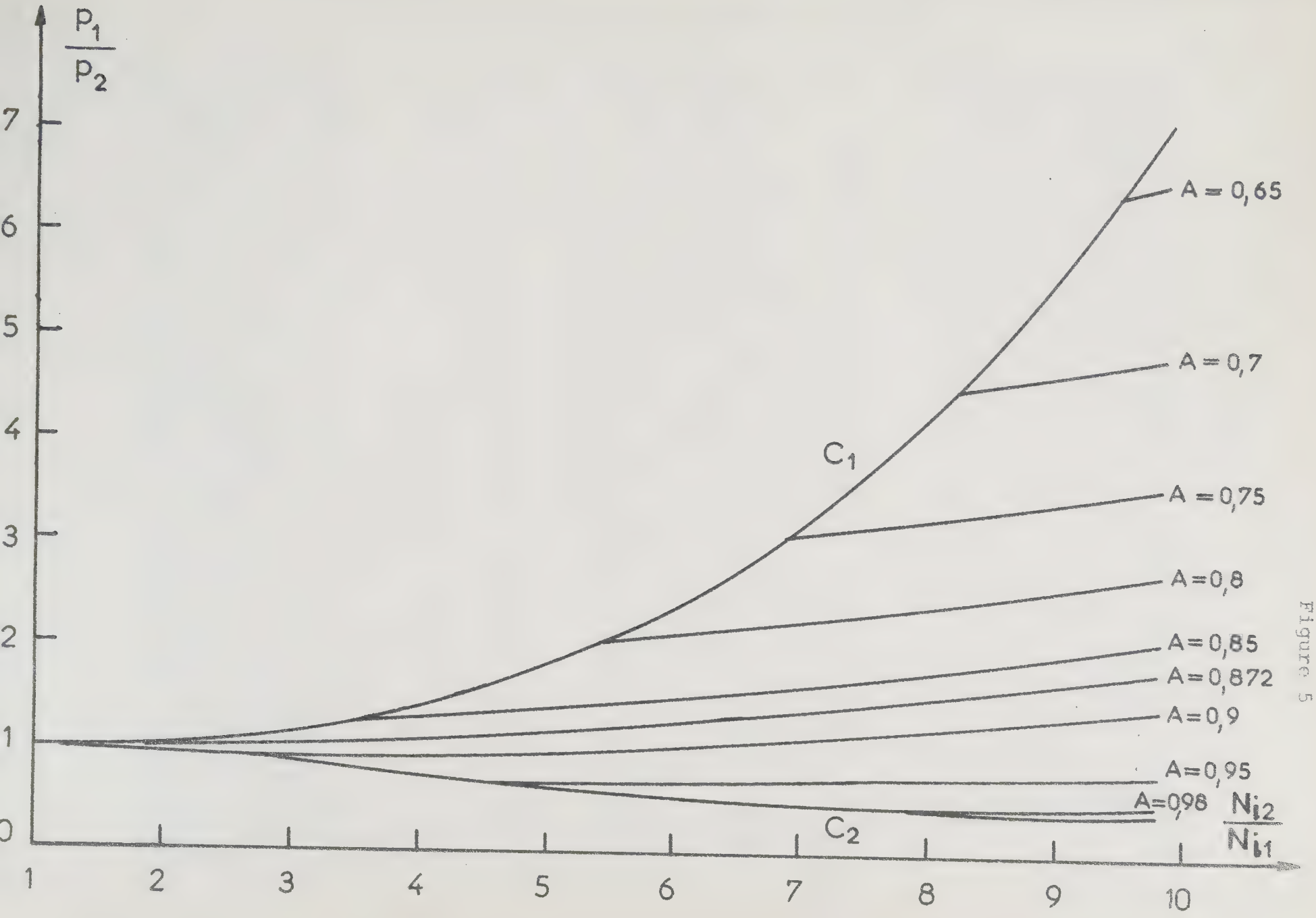

P1/P2
7
6
5
4
3
2
1
0
A = 0,65
A = 0,7
A = 0,75
A=0,8
A=0,85
A=0,872
A=0,9
A=0,95
A=0,98
C1
C2
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Ni2/Ni1

Figure 5

Ce graphique permet donc de déterminer si un spectre expérimental présentant deux décroissances successives est compatible ou non avec un processus à deux temps de relaxation. Si les rapports P_1/P_2 et N_{i2}/N_{i1} obtenus à partir du spectre expérimental donnent un point représentatif qui se place à l'extérieur du domaine D, on doit conclure que les variations d'absorption observées ne sont pas compatibles avec un processus à deux temps de relaxation.

III. REMARQUE RELATIVE A UN PROCESSUS A TROIS TEMPS DE RELAXATION

Nous avons voulu déterminer comment l'addition d'un terme de relaxation supplémentaire modifiait les résultats précédents. Nous ne nous intéresserons qu'aux points situés au voisinage de la courbe C_1 de la figure 5, correspondant à des rapports P_1/P_2 supérieur à 1. En effet, lorsque nous appliquerons le critère aux spectres expérimentaux, seuls des rapports P_1/P_2 supérieurs à 1 interviendront.

Nous avons ajouté à l'expression de y un terme de relaxation supplémentaire :

$$\frac{A_3}{1+ (N/N_{r3})^2}$$

en donnant à A_3 une valeur faible et à N_{r3} différentes valeurs. Tous les résultats obtenus ont donné des points représentatifs sur la figure 5, situés en dessous de C_1. Il semble donc que l'addition d'un terme supplémentaire rende la condition qui lie P_1/P_2 (pour $P_1/P_2>1$) à N_{i2}/N_{i1} encore plus restrictive, dans le cas où il y a deux décroissances ; autrement dit, le point re-

présentatif se trouve nécessairement, s'il s'agit de relaxation, dans un domaine du plan situé en dessous de C_1.

La condition que nous venons d'établir permettant d'affirmer qu'un spectre expérimental est anormal, est une condition suffisante mais non pas nécessaire. C'est ainsi qu'un spectre comportant deux chutes successives très raides mais de pentes égales serait représenté par un point situé dans le domaine D sans pour autant être compatible avec un processus de relaxation.

IV. APPLICATION DU CRITERE A CERTAINS SPECTRES OBTENUS SUR DES SOLUTIONS DE HAUTS POLYMERES

Les résultats des mesures d'absorption ultrasonore sur des solutions de hauts polymères sont représentés en général en portant la quantité α_{sp}/C (C étant la concentration) en fonction de la fréquence N. Puisque, comme nous l'avons vu, α_{sp} varie linéairement avec $\alpha/_N 2$, il est permis de déterminer directement le rapport P_1/P_2 sur de tels spectres.

1) Cas des solutions benzéniques de polyméthacrylate de méthyle

Nous avons déterminé les rapports P_1/P_2 et N_{i2}/N_{i1} pour les différents spectres d'absorption obtenus pour de telles solutions, et nous avons porté quelques uns des résultats sur la figure 6. Les nombres en regard de chaque point représentatif permettent d'identifier les échantillons de PMM dont certaines caractéristiques sont données dans le tableau I. Les points représentatifs de la figure 6 ont été déterminés d'une part à partir des spectres obtenus au cours d'un travail récent de TONDRE et CERF[9]

Figure 6

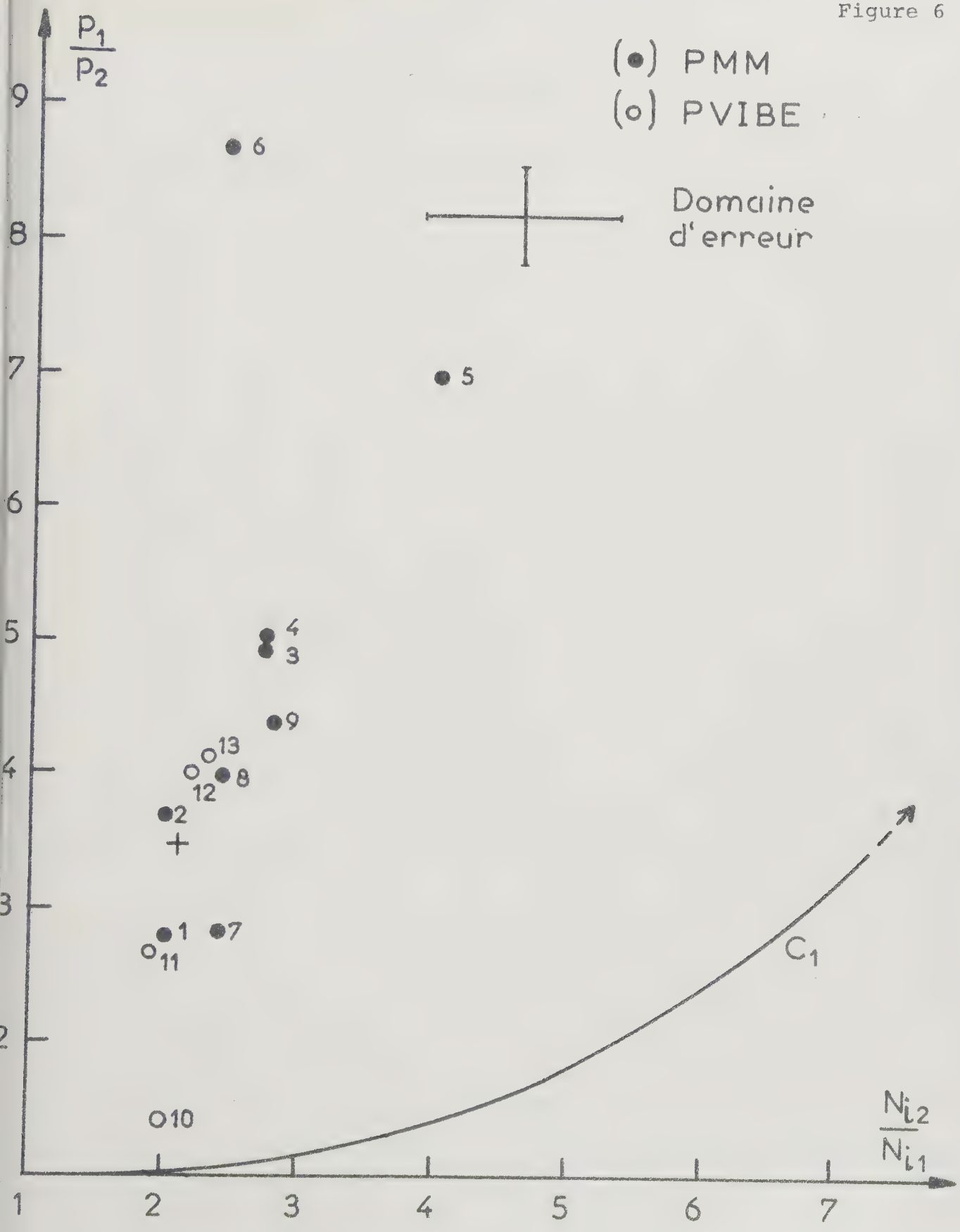

$\frac{P_1}{P_2}$
(•) PMM
(o) PVIBE
Domaine d'erreur
C_1
$\frac{N_{i2}}{N_{i1}}$
9
8
7
6
5
4
3
2
1
2
3
4
5
6
7
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

TABLEAU I

N° sur la fig.6	Polymère	Référence	Masse Moléculaire M_w	Tacticité * s%	h%	i%	N_{i1}	N_{i2}	N_{i2}/N_{i1}	P_1/P_2
1	PMM	(9) 1572	48.000	35	48	17	3	6	2	2,8
2	PMM	(9) 1431f3	208.000	45	46,5	8,5	2,5	5	2	3,7
3	PMM	(9) 1574	800.000	46	41	12,5	2,8	7,5	2,7	5
4	PMM	(9) 1573	51.000	44	44	12	2,8	7,5	2,7	5
5	PMM	(9) 1366f3	63.000	69	24,5	6,5	2,5	10	4	7
6	PMM	(9) 1575	600.000	52	40	8	2,8	6,7	2,4	8,7
7	PMM	PMM1	960.000				3,7	9	2,4	2,8
	PMM	PMM1	413.000				3,7	9	2,4	2,8
8	PMM	PMM2	580.000				3,8	9	2,4	4
	PMM	PMM2	230.000				3,8	9	2,4	4
9	PMM	PMM3	195.000				3,2	9	2,8	4,4
	PMM	PMM3	120.000				3,2	9	2,8	4,4
10	PVIBE	(11)	5.000				3,3	6,5	2	1,4
11	PVIBE	(10)	20.000				3,8	7,1	1,9	2,7
12	PVIBE	(4)	236.000				3,7	7,3	2,2	4
13	PVIBE	(7)	20.000				3,6	8,3	2,3	4,1

* s%, h%, i% : pourcentage des séquences syndiotactiques, hétérotactiques et isotactiques.

et d'autre part à partir des spectres que nous avons déterminés de notre côté au cours de l'étude de la dégradation ultrasonore et dont les résultats sont donnés au chapitre suivant (PMM 1,2 et3).

Les résultats de la figure 6 appellent quelques remarques :

a) Tout d'abord, le domaine d'erreur indiqué sur cette figure résulte de l'imprécision sur la détermination de P_1,P_2, N_{i1} etN_{i2} à partir des spectres tels qu'ils sont tracés. Nous ferons une remarque concernant la précision des mesures expérimentales elles-mêmes par la suite (§ IV de ce même chapitre).

b) On constate que les points représentatifs sont situés au dessus de C_1 ce qui indique qu'on ne peut pas attribuer ces variations d'absorption à des processus de relaxation. Signalons que tous les autres points représentatifs que nous avons déterminés de la manière indiquée, se placent également au dessus de C_1. Par ailleurs, le rapport des fréquences inflexionnelles se situe presque dans tous les cas entre 1,8 et 3,2.

c) Nous n'avons constaté aucune corrélation de P_1/P_2 ni avec la masse moléculaire, ni avec la tacticité des polymères.

2) Cas des solutions benzéniques de polyvinylisobutyléther (PVIBE)

Ces solutions présentent également deux décroissances successives de l'absorption. Nous avons porté sur la figure 6 les rapports P_1/P_2 en fonction des rapports N_{i2}/N_{i1} déterminés à partir des spectres publiés il y a quelques années (4-7-10-11). Dans ce cas encore les points représentatifs sont situés au dessus de C_1 ce qui indique que le mécanisme responsable de l'absorption n'est pas la relaxation. On trouvera dans le tableau I les masses moléculaires ainsi que les références concernant ces différents PVIBE.

Ces observations faites sur les spectres de PMM et de PVIBE en solution benzénique n'ont encore trouvé aucune explication.

V. MESURES POUR UNE SOLUTION BENZENIQUE DE POLYMETHACRYLATE DE METHYLE

Nous avons tenu à effectuer de nouvelles mesures en prenant des précautions particulières que nous allons maintenant préciser. Nous avons déterminé le spectre d'absoprtion d'une solution benzénique de PMM. Les mesures ont été faites, comme pour l'étude des solutions précédentes, en utilisant un interféromètre à deux transducteurs mis au point au laboratoire (4-6-7). Cet appareil ne permet pas de déterminer des coefficients d'absorption en valeur absolue. C'est pourquoi avant chaque expérience on détermine habituellement le rapport α_1/α_2 des coefficients d'absorption de deux liquides d'absorption connue. Si la valeur mesurée de α_1/α_2 est correcte, on effectue alors la mesure de α et α_o (α étant le coefficient d'absorption de la solution et α_o celui du solvant), mais on exprime les résultats en absorption spécifique α_{sp} (ou α_{sp}/C) quantité qui ne fait intervenir que le rapport α/α_o,

$$\alpha_{sp} = \frac{\alpha-\alpha_o}{\alpha_o} = \frac{\alpha}{\alpha_o} - 1$$

Puisque l'on utilise des solvants d'absorption connue α_o, cette relation permet du reste d'obtenir ensuite la valeur de $\alpha/_N{}^2$ pour la solution puisque l'on a :

$$\frac{\alpha}{N^2} = \frac{\alpha_o}{N^2} \quad (\alpha_{sp}+1)$$

Signalons que les réglages permettant d'obtenir la valeur correcte de α_1/α_2 doivent généralement être repris à chaque fréquence. En général un des liquides servant à mesurer ce rapport α_1/α_2 est le solvant utilisé pour étudier le polymère, de sorte que l'on aura par exemple $\alpha_2=\alpha_o$, mais le rapport α_1/α_2 est différent du rapport α/α_o. Or il est apparu qu'à certaines fréquences α_1/α_2 pouvait varier légèrement selon la valeur de α_1. Les précautions que nous avons prises consistaient donc à mesurer le rapport α_1/α_2 pour des valeurs de α_1 voisines de celles de α. Nous avons choisi des valeurs de α_1 qui encadrent, à chaque fréquence, la valeur du coefficient d'absorption de la solution α.

Il faut noter par ailleurs qu'il n'est pas toujours possible d'obtenir la bonne valeur de α_1/α_2. Il est alors nécessaire d'effectuer une correction sur α/α_o ; habituellement on suppose que α_1/α_2 et α/α_o sont modifiés dans un même rapport. Comme nous le verrons le procédé que nous avons employé permet d'effectuer la correction indépendamment de toute hypothèse sur la variation du terme correctif avec α_1.

Nos mesures ont été faites à 25°C. A chaque fréquence nous avons donc déterminé d'abord le rapport α_1/α_2 pour différents liquides d'absorption connue. Nous avons choisi d'une part le benzène (α_2) qui était le solvant utilisé pour étudier le PMM, et d'autre part des mélanges éthylbenzène-benzène (α_1), dont les concentrations C_m étaient inférieures à 3,2g/100 ml. On sait que pour ces concentrations $\alpha/_N2$ est constant dans le domaine de fréquences étudié [10], et par conséquent nous avons déterminé les valeurs absolues de $\alpha_1/_N2$ à une seule fréquence, en utilisant le dispositif réalisé par LEMARECHAL qui permet de mesurer des absorptions par une méthode impulsionnelle [12].

Signalons que ce dispositif d'impulsion ne permet pas d'effectuer des mesures à des fréquences inférieures à 15,8MHz.

La courbe 1 de la figure 7 représente la variation de α_1/α_2 ainsi obtenue pour les différents mélanges. Sur cette même figure nous avons porté certaines valeurs de α_1/α_2 déterminées par interférométrie. Nous allons montrer comment cette série de courbes permet de corriger les valeurs de α/α_o déterminées par interférométrie. A chaque fréquence on détermine la concentration du mélange C_m^s qui donne une valeur de α_1/α_2 égale à celle de la solution (α/α_o). La courbe 1 permet ensuite d'obtenir la valeur correcte de α_1/α_2 correspondant à cette concentration C_m^s ; cette valeur est précisément la valeur corrigée de α/α_o.

Lorsque la courbe 1 de la figure 7 (impulsion) et la courbes des α_1/α_2 déterminées par interférométrie sont homothétiques, la présente correction ne diffère pas de celle qui était couramment effectuée jusqu'ici, et qui revenait à multiplier α/α_o par un facteur correctif constant. Le procédé que nous avons décrit est indépendant de cette condition ; on voit d'ailleurs sur la figure 7 que les différentes courbes ne sont pas rigoureusement homothétiques.

Les valeurs de α_{sp}/C obtenues ainsi pour la solution benzénique de PMM sont portées sur la figure 8. Nous donnons pour chaque point expérimental le domaine d'erreur (trait vertical). On voit que les mesures effectuées avec les précautions particulières qu'on vient de décrire ont conduit à des résultats très comparables à ceux qui avaient été obtenus antérieurement (voir notamment les références (9) et (13).

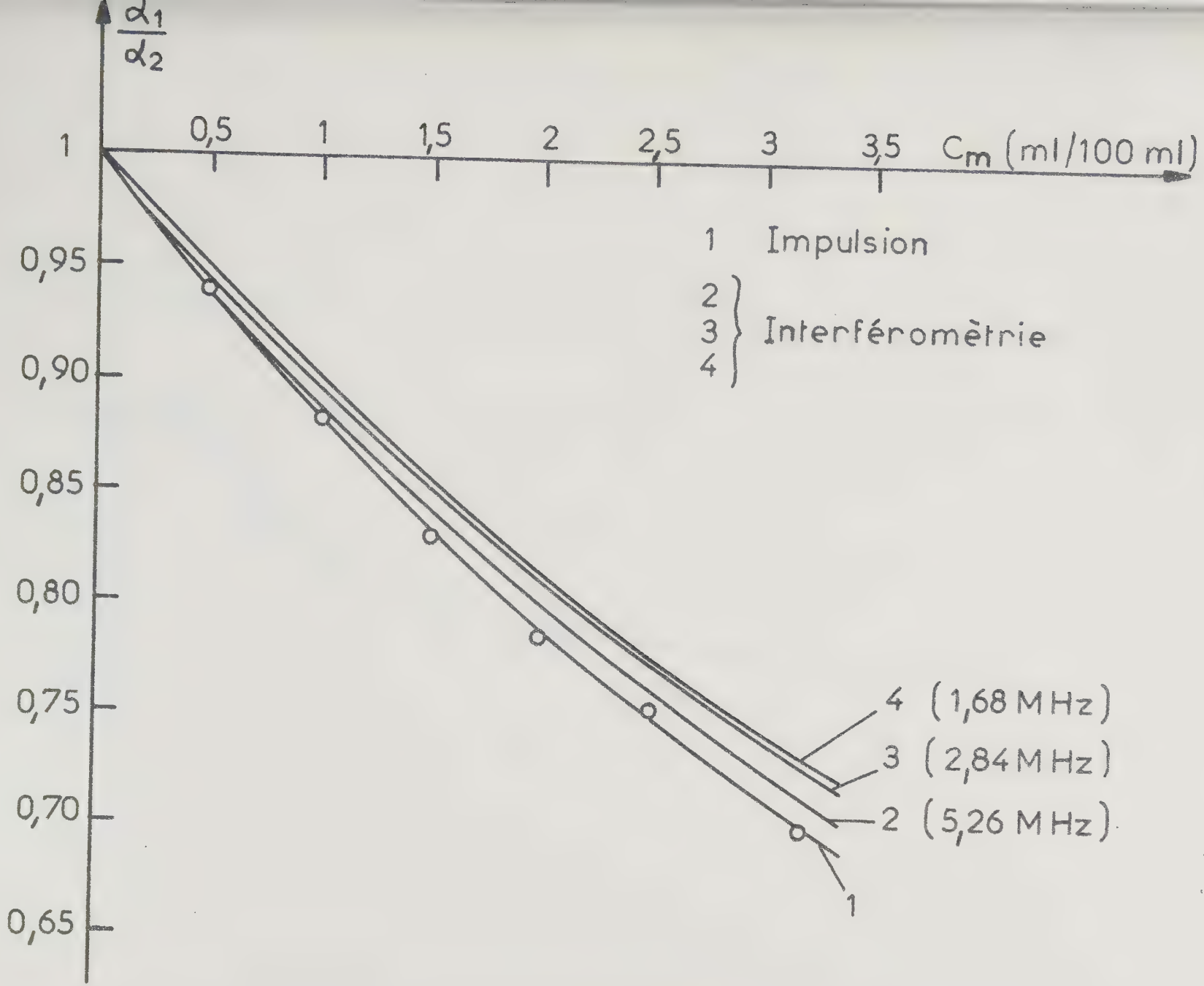
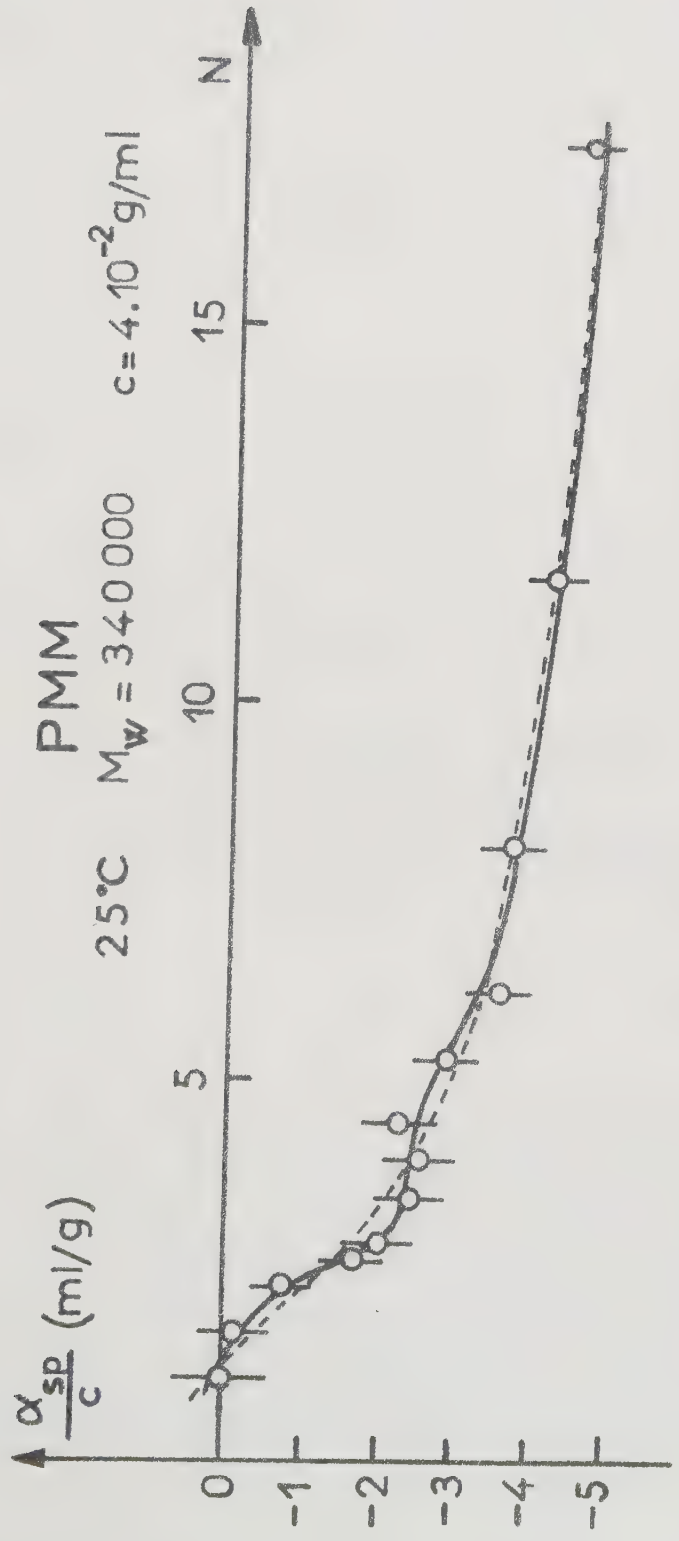

$\frac{\alpha_1}{\alpha_2}$
1
0,95
0,90
0,85
0,80
0,75
0,70
0,65
0,5
1
1,5
2
2,5
3
3,5
C_m (ml/100 ml)
1 Impulsion
2
3
4
Interféromètrie
4 (1,68 MHz)
3 (2,84 MHz)
2 (5,26 MHz)
1

Figure 8



Par ailleurs la valeur de P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1} déterminée à partir de ce spectre a été portée sur la figure 6 où elle est représentée par une croix. Cette valeur se situe également au dessus de C_1.

Il faut noter toutefois que les écarts entre la courbe présentant deux décroissances d'absorption et une courbe ne présentant qu'une décroissance sont à la limite des erreurs expérimentales (figure 8).

Deux faits cependant diminuent la portée de cette objection.

1) Pratiquement tous les échantillons de PMM présentent deux décroissances. Certains PMM n'en donnent qu'une, mais ce sont généralement des polymères très isotactiques.

2) D'autres polymères (par exemple le polystyrène) n'ont jamais montré deux décroissances, de sorte qu'il serait difficile d'admettre que les deux décroissances observées pour d'autres polymères résultent d'erreurs systématiques.

VI. CONCLUSION

Nous avons établi un critère destiné à comparer les spectres expérimentaux présentant deux décroissances de l'absorption spécifique (ou de $\alpha/_N 2$) en fonction de la fréquence, à des spectres résultant de processus de relaxation. Ce critère donne une condition suffisante permettant d'affirmer dans certains cas, qu'un spectre expérimental n'est pas compatible avec un processus de relaxation. Nous avons ainsi pu montrer que les

spectres obtenus précédemment pour certaines solutions benzéniques de hauts polymères (PMM, PVIBE), n'étaient pas compatibles avec de tels processus. Nous avons déterminé de notre côté le spectre d'absorption d'une solution benzénique de PMM en prenant des précautions particulières et nous confirmons la forme des spectres précédemment obtenus pour ce polymère. Bien que les écarts entre la courbe présentant deux décroissances d'absorption et une courbe n'en présentant qu'une soient à la limite des erreurs expérimentales, le caractère systématique de l'observation pour des polymères bien spécifiés, et pour ceux-là seulement, ne permet toutefois guère d'admettre qu'il s'agisse d'erreurs systématiques.

CHAPITRE II

DEGRADATION ULTRASONORE SUR DES SOLUTIONS DE POLYMETHACRYLATE DE METHYLE.

I. INTRODUCTION

Les premières mesures d'absorption ultrasonore effectuées sur des solutions benzéniques de PMM ont montré que le spectre d'absorption était sensible à la tacticité, mais semblèrent indiquer également une influence de la masse moléculaire. En particulier, une augmentation de la première fréquence inflexionnelle avec la masse moléculaire a été observée [2]. Les différents échantillons de PMM étudiés avaient été obtenus dans des conditions de polymérisation différentes. L'hypothèse a été faite [8] qu'en conduisant les polymérisations de façon à avoir des masses différentes, on pouvait également obtenir des polymères de structures locales différentes. Dans ces conditions l'influence de la masse moléculaire sur le spectre d'absorption ultrasonore pouvait n'être qu'apparente et traduire, au moins partiellement, des différences de structure locale.

Afin d'obtenir des échantillons de PMM de même structure locale mais de masses moléculaires différentes, nous avons soumis certaines molécules de PMM à l'action d'un rayonnement ultrasonore intense. Nous avons ensuite déterminé le spectre d'absorption des échantillons dégradés et non dégradés.

II. RESULTATS

Nous avons brisé les molécules de PMM en utilisant un désintégrateur Mullard 4200. Le polymère était mis en solution dans le benzène à une concentration comprise entre $3,5.10^{-2}$ et 5.10^{-2} g/ml et soumis au rayonnement ultrasonore du désintégrateur pendant des durées allant de 3 heures à 72 heures.

Nous avons étudié quatre échantillons de PMM qui ont été préparés comme suit. Le PMM1 a été préparé par voie radicalaire ; les PMM2,3 et 4 ont été préparés par la méthode de Szwarc en utilisant comme initiateur respectivement le tétraphényl-1,1,4,4-butane, le diphénylméthylsodium et le tétramère disodé de l'α méthylstyrène.

Les PMM 2 et 4 ont fait l'objet de deux dégradations successives. Les masses moléculaires M_w des 4 échantillons avant et après dégradation ont été déterminées par diffusion de la lumière et sont données dans le tableau II.

TABLEAU II

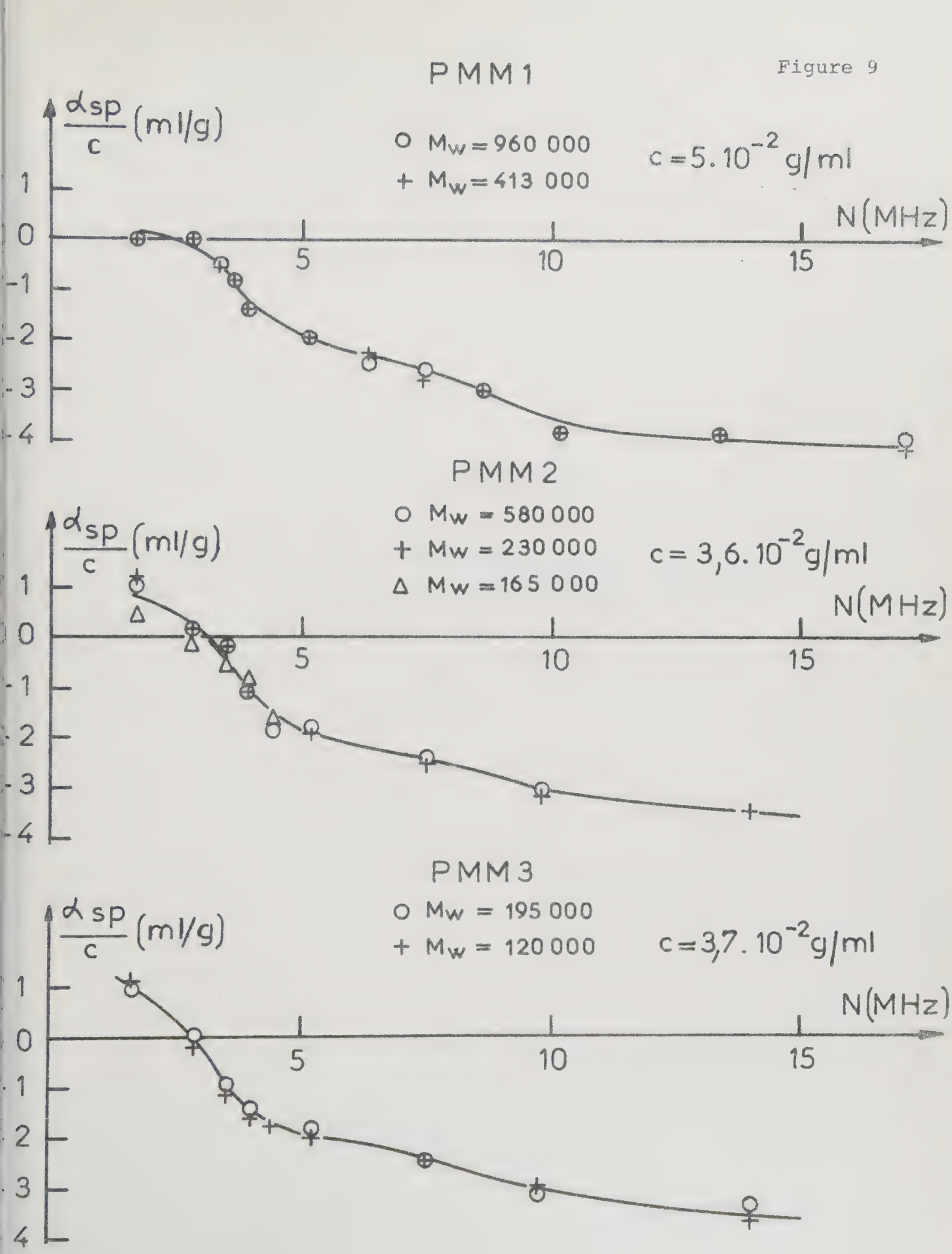
PMM	M_w avant dégradation	M_w après dégradation
PMM 1	960.000	413.000
PMM 2	580.000	230.000;165.000
PMM 3	195.000	120.000
PMM 4	525.000	230.000; 110.000

Dans le cas le plus favorable la masse moléculaire a été réduite d'un facteur 4,7.

Les mesures de spectroscopie ultrasonore ont été faites en solution benzénique à 25°C en utilisant la méthode interférométrique. Le spectre d'absorption du polymère dégradé a été effectué simultanément avec celui du polymère non dégradé. Sur la figure 9 nous avons porté les résultats relatifs aux PMM 1,2 et 3. Pour ces trois échantillons, comme pour le PMM 4, les spectres d'absorption avant et après dégradation sont confondus dans le domaine de fréquence exploré.

Ces résultats ont été confirmés par TONDRE[13], qui à l'aide d'un désintégrateur plus puissant a pu réduire des masses moléculaires égales à 545.000 et 450.000 respectivement d'un facteur 5,8 et 5,3. L'ensemble de ces résultats indique que la masse moléculaire du PMM n'est pas un facteur pouvant affecter le spectre d'absorption, tout au moins pour des masses comprises entre 85.000 et 960.000.

Figure 9


PMM1
$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
○ $M_w = 960\,000$
+ $M_w = 413\,000$
$c = 5.10^{-2}$ g/ml
N(MHz)
1
0
-1
-2
-3
-4
5
10
15
PMM2
$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
○ $M_w = 580\,000$
+ $M_w = 230\,000$
Δ $M_w = 165\,000$
$c = 3{,}6.10^{-2}$ g/ml
N(MHz)
PMM3
$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
○ $M_w = 195\,000$
+ $M_w = 120\,000$
$c = 3{,}7.10^{-2}$ g/ml
N(MHz)

DEUXIEME PARTIE

ABSORPTION ULTRASONORE DANS DES SOLUTIONS D'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE

-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-

CHAPITRE I

DESCRIPTION DE L'APPAREILLAGE

I. INTRODUCTION

Les premiers résultats d'absorption ultrasonore dans les solutions d'ADN[5] ont été obtenus en utilisant un dispositif expérimental particulier. Nous avons déjà signalé que les mesures ont été faites à 5°C. Cette température a été choisie pour éviter une détérioration des solutions d'ADN qui apparaissait à température ambiante, au cours du temps nécessaire à la détermination d'un spectre. Par ailleurs, la précaution a été prise de ne mettre les solutions qu'au contact de verre et de platine. L'utilisation d'autres métaux, notamment l'argent pour la métallisation des transducteurs, donnait des résultats non reproductibles.

II. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le principe de la méthode ainsi que le dispositif expérimental utilisé au laboratoire pour la détermination d'un coefficient d'absorption par la méthode interférométrique à deux transducteurs ont déjà été décrits ailleurs [4-67]. Nous rappellerons simplement que le liquide à étudier est placé entre deux transducteurs, l'émetteur et le récepteur. L'émetteur est fixe et envoie à travers le liquide des ondes sinusoïdales de fréquence N. Le coefficient d'absorption α du liquide est obtenu en mesurant, à l'aide du récepteur mobile, l'amortissement de l'onde sinusoïdale en fonction de la distance entre les deux transducteurs.

Sur la figure 10 nous reproduisons une vue schématique de l'interféromètre. L'émetteur (E) est collé au fond d'une cuve (C) destinée à recevoir le liquide étudié (S). Cette cuve est vissée sur une plaque orientable (P). Le récepteur (R) est fixé par l'intermédiaire d'un support (U) à un parallélogramme articulé (A) qui assure son déplacement parallélement à lui-même. Les parties modifiées sont : la cuve (C) et le support (U) qui sont partiellement en contact avec la solution (S),ainsi que la plaque orientable(P).

III. TRANSDUCTEURS

Les transducteurs ont été platinés en utilisant la méthode de Kundt. Cette méthode consiste à provoquer sur la surface à métalliser la réduction du tétrachlorure de platine à 650°C. Dans notre cas cependant, nos transducteurs étant des quartz, pour ne pas affecter leur propriété piézoélectrique nous avons utilisé des températures inférieures à 450°C. Après réduction le platine reste fixé à la surface du transducteur, mais il faut répéter cette opération environ vingt fois avant d'obtenir entre le centre et le bord du transducteur une résistance inférieure à un ohm. Cette valeur de la résistance est nécessaire au bon fonctionnement des transducteurs.

IV. CUVE THERMOSTATIQUE

La partie A de la figure 11 représente une vue en coupe de la cuve utilisée.Pour plus de clarté nous l'avons séparée sur cette figure de la plaque orientable (partie C) sur laquelle elle est fixée. Sur la figure 12 nous avons représenté une vue de dessus de cette cuve. Celle-ci se compose d'un socle (V) en verre,

Figure 10

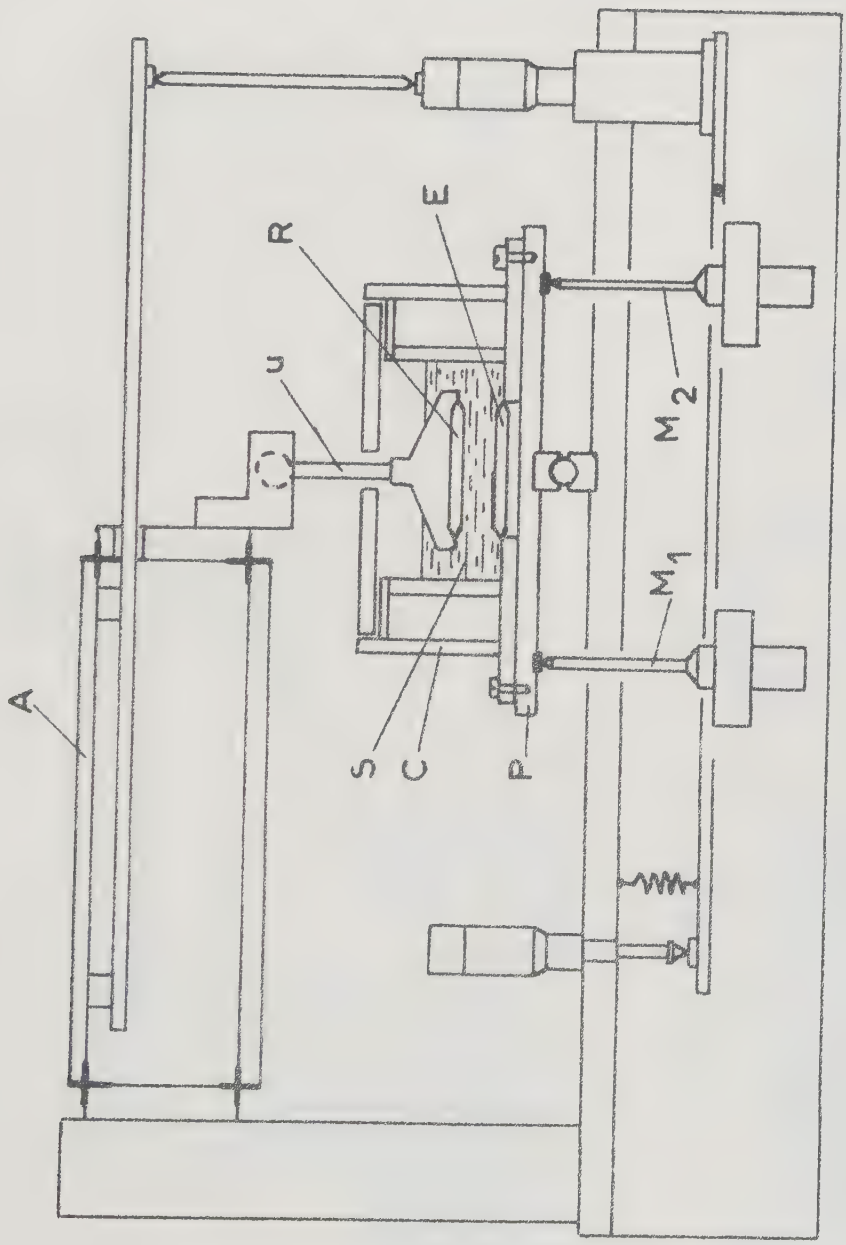


SCHÉMA DE L'INTERFÉROMÈTRE

Figure 11

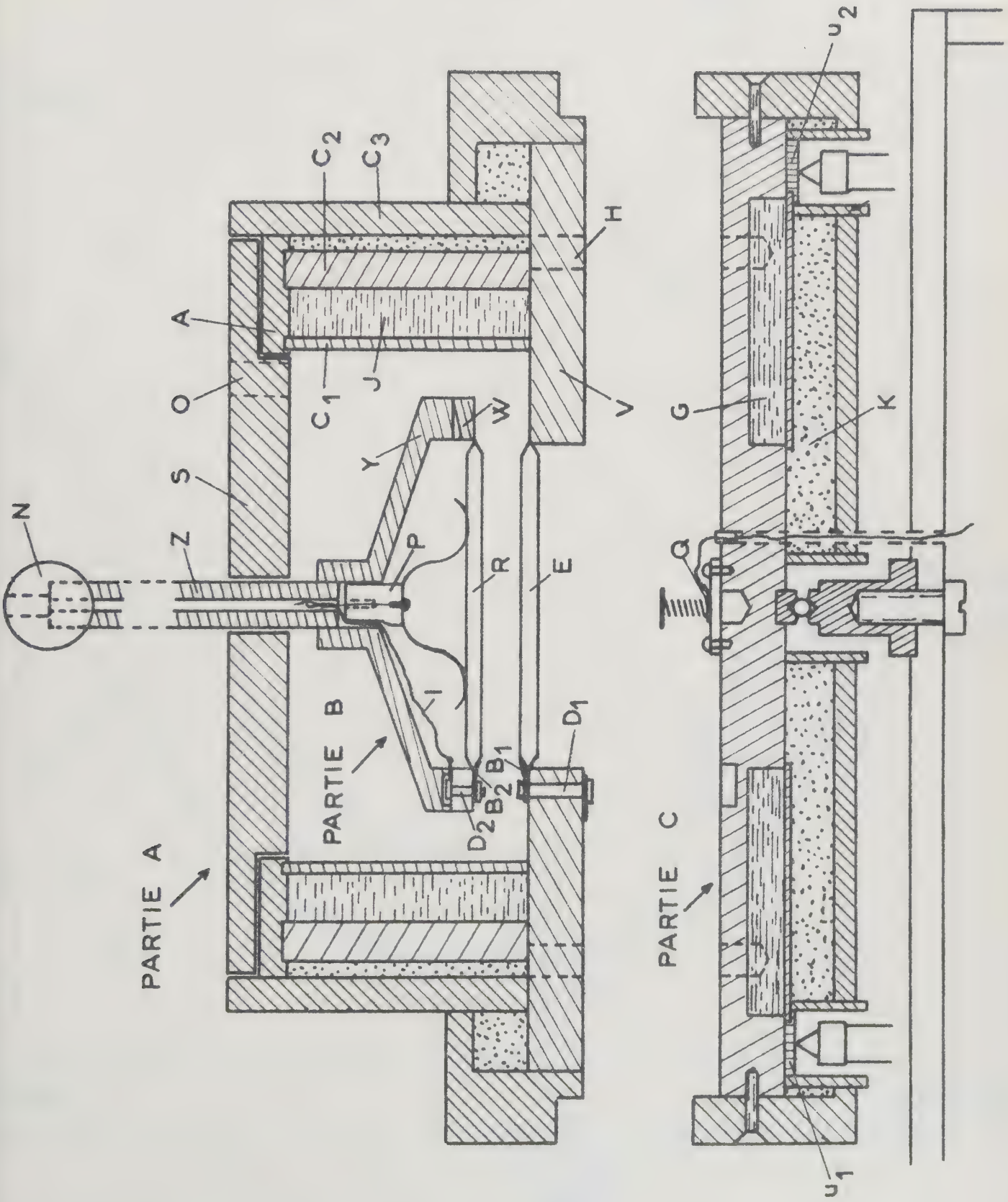
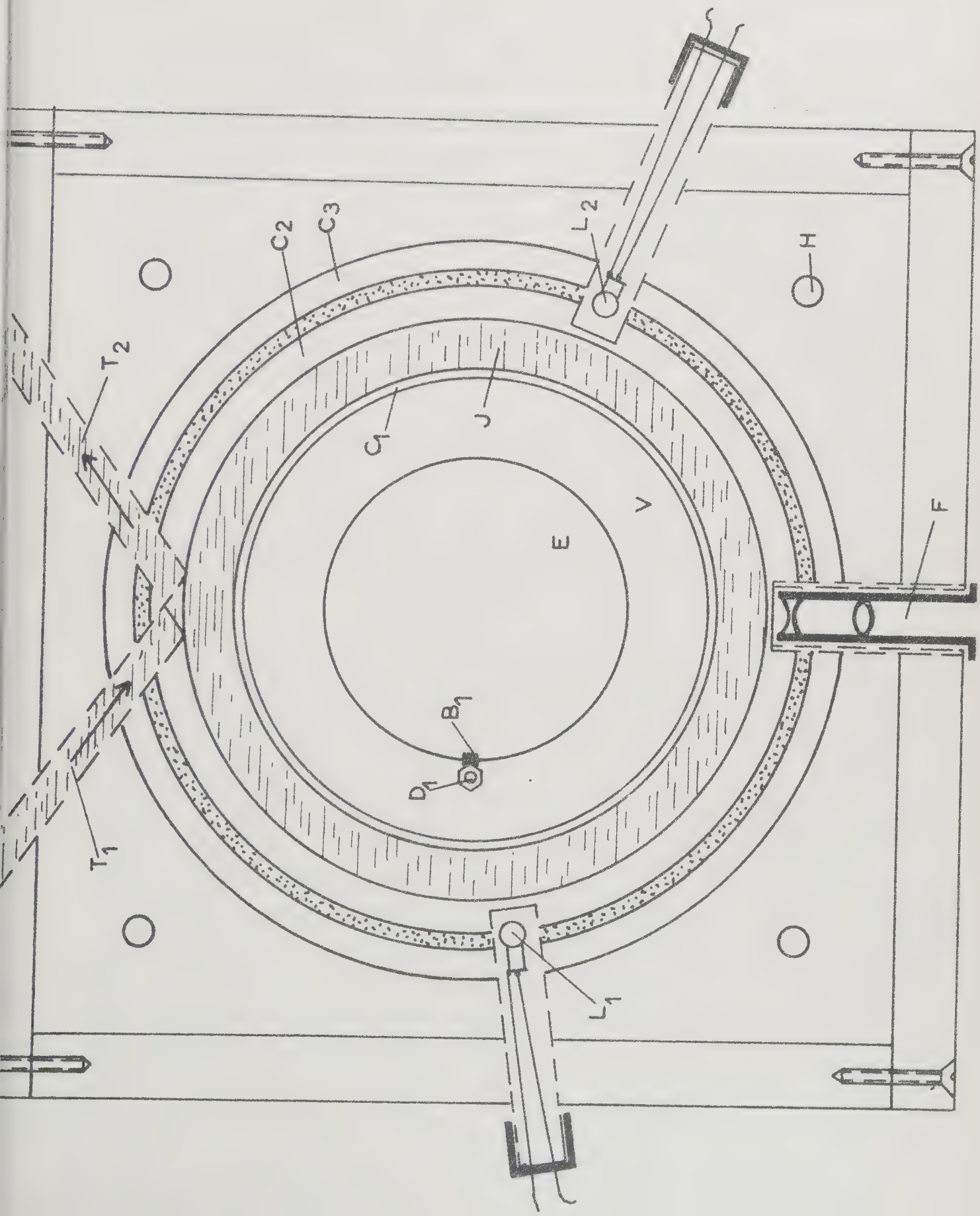

PARTIE A
PARTIE B
PARTIE C
N
Z
S
O
A
C_2
C_3
H
C_1
J
V
Y
W
P
R
E
I
D_1
B_1
B_2
D_2
u_2
G
K
Q
u_1

Figura 12



percé en son centre d'une ouverture circulaire sur la tranche de laquelle est collé le transducteur émetteur (E). Le contact électrique sur la face supérieure de l'émetteur s'effectue par l'intermédiaire d'une lamelle en platine (B1). Celle-ci repose d'un côté sur la partie biseautée du transducteur ; elle est serrée de l'autre côté, à l'aide d'un écrou en platine, sur une vis (D1) également en platine. Cette vis traverse le socle et est reliée à la masse de l'appareil. Le contact électrique sur la face inférieure de l'émetteur s'effectue lorsque la cuve est placée sur la plaque orientable.

Trois cylindres (C_1), (C_2) et (C_3) sont collés sur le socle (V).

Le cylindre (C_1), en verre, constitue avec le socle la cuve proprement dite dans laquelle on place le liquide à étudier.

Le cylindre (C_2) est en plexiglass et forme avec le cylindre (C_1) une double-paroi à l'intérieur de laquelle circule le réfrigérant (J). Celui-ci pénètre au niveau inférieur de la double-paroi par l'intermédiaire d'un conduit (T1) et sort par un conduit (T2) placé à la partie supérieure de celle-ci. Comme le montre la figure 12 ces conduits sont fortement inclinés, ce qui assure une bonne circulation du réfrigérant. Une pièce (A), collée sur les cylindres (C_1) et (C_2), ferme le haut de la double-paroi. De la laine de verre est placée entre les cylindres (C_2) et (C_3). La cuve est fermée par un couvercle (S) percé d'une ouverture (O) servant à placer un thermomètre dans la solution. Le cylindre (C_3) ainsi que le couvercle (S) sont en chlorure de polyvinyle qui est un bon isolant.

Le socle en verre est percé de quatre trous (H), situés à l'extérieur du cylindre (C_3), qui permettent de fixer la cuve sur la plaque orientable.

Il arrive que des bulles se disposent sur la surface des transducteurs, ce qui fausse les mesures. Pour contrôler la surface des transducteurs un dispositif optique, composé d'une lentille divergente et d'une lentille convergente, a été placé à l'intérieur de la cuve. Comme le montre la figure 12 une ouverture a été aménagée dans le cylindre (C_3), et une partie du cylindre (C_2) a été percée pour recevoir ce dispositif optique (F). Les cylindres (C_1) et (C_2) ainsi que le réfrigérant (eau) étant transparents, un éclairage latéral (L_1 et L_2) permet d'examiner la surface des transducteurs.

V. SUPPORT DU REFLECTEUR

Celui-ci également en contact avec la solution est en verre. La partie B de la figure 11 représente une vue en coupe de ce support. Il se compose de trois parties désignées (W), (Y) et (Z).

La partie (W) est un anneau de section rectangulaire sur lequel est collé le récepteur (R). Cet anneau est traversé par une vis en platine (D2) qui sert à fixer une lamelle (B2) également en platine. Cette lamelle assure le contact électrique sur la face extérieure du récepteur. La vis (D2) est en effet reliée à la masse de l'appareil par un fil électrique (I) qui traverse l'intérieur du support.

L'anneau (W) est collé sur la partie (Y). Celle-ci possède une ouverture cylindrique dans laquelle est logée une pièce en plexiglass (P). Cette pièce porte une lamelle en argent qui assure le contact électrique sur la face interne du récepteur.

Une tige de verre (Z) est collée dans la partie supérieure de la pièce (Y). Cette tige est traversée par les fils de contact. Elle est surmontée d'une bille en acier (N) qui vient se loger entre deux machoires hémisphériques fixées sur le parallélogramme, ce qui permet d'effectuer un parallélisme approximatif en mettant les deux transducteurs en contact.

Il est important de signaler que ce support a été conçu pour être immergé dans la solution. Lorsque l'on effectue des mesures à des températures inférieures à la température ambiante, en utilisant un support non immergeable, diverses causes perturbatrices apparaissent. Celles-ci ont été décrites par O.FIX[11]. Il se produit par exemple des condensations sur la surface du réflecteur, ou encore le parallélisme entre l'émetteur et le récepteur n'est pas conservé lorsque l'on déplace ce dernier. Avec le montage adopté ces inconvénients étaient évités.

VI. PLAQUE ORIENTABLE

Cette plaque sur laquelle on peut agir à l'aide de deux vis micrométriques appelées (M_1) et (M_2) sur la figure 10, permet d'effectuer un très bon parallélisme entre les deux transducteurs. Pour obtenir une meilleure thermostation de la solution nous l'avons également utilisée pour y faire circuler le réfrigérant. Comme le montre la vue en coupe de la figure 11 (partie C) une cavité tonique (G) a été aménagée dans ce but à l'intérieur de cette plaque. Le dessous de cette plaque est isolé de l'extérieur par de la laine de

verre (K). La plaque repose en son centre sur une bille en acier logée entre deux cônes. Sa partie avant est maintenue au contact des vis micrométriques à l'aide d'un ressort de rappel. Les vis micrométriques n'agissent pas directement sur la plaque qui est en laiton, mais agissent sur deux disques en acier (U_1) et (U_2) sertis dans cette plaque. Enfin une pièce isolante (Q) sert à fixer un ressort auquel est soudée une lamelle d'argent destinée à faire le contact sur la partie inférieure de l'émetteur.

VII. CRYOSTAT

Nous avons construit un cryostat selon un modèle couramment utilisé, nous ne le décrirons donc pas en détail. Il se compose d'un récipient calorifugé contenant 15 litres d'eau dans lequel plonge une source de froid. La température de l'eau est régulée à l'aide d'une résistance branchée sur un relais électronique lui-même commandé par un vertex placé dans le réfrigérant. Une pompe envoie le réfrigérant autour de la cuve où se trouve placée la solution.

Ce dispositif permet ainsi d'obtenir dans la solution une température constante à mieux qu' un dixième de degré près.

CHAPITRE II

SPECTROSCOPIE ULTRASONORE

I. INTRODUCTION

Nous avons entrepris des mesures de spectroscopie ultrasonore dans des solutions d'ADN à la suite des résultats obtenus par LITZLER et CERF [5]. Rappelons qu'un maximum dans la variation de α_{sp}/C en fonction de la fréquence avait été observé pour les deux échantillons d'ADN étudiés. Avant chaque mesure d'absorption nous avons effectué un étalonnage identique à celui décrit précédemment dans le cas d'une solution benzénique de PMM (première partie, chapitre I, § V). Les liquides utilisés ici pour faire ces étalonnages étaient d'une part l'eau (α_2) et d'autre part des mélanges eau-glycérine (α_1). Nous donnerons certains résultats relatifs aux mélanges eau-glycérine.

II. MESURES D'ABSORPTION ULTRASONORE. MELANGES EAU-GLYCERINE

Les résultats que nous allons donner ont été obtenus avec les deux types d'appareil déjà cités. Aux fréquences comprises entre 3,5 et 21 MHz les mesures ont été faites à l'aide de l'interféromètre à deux transducteurs, sauf à 15,8 MHz où elles ont été réalisées à l'aide de la méthode d'impulsion. Celle-ci nous a permis en outre, d'effectuer des mesures entre 26,2 et 110 MHz.

Les mesures dans les mélanges, eau-glycérine ont été faites, comme pour les solutions d'ADN, à 5°C. Nous avons déter-

miné l'absorption en valeur absolue pour ces mélanges entre 15,8 et 110 MHz, en utilisant la méthode d'impulsion. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 13. Nous n'avons étudié que des concentrations inférieures à 20 % (il s'agit de concentration en volume de glycérine pour 100 ml de solution). Cette concentration fournit en effet un coefficient d'absorption égal à 73.10^{-17} $cm^{-1}sec^{2}$ alors que le coefficient d'absorption le plus élevé obtenu à 5°C, pour les solutions d'ADN, était de $58.10^{-17}cm^{-1}$ sec^{2}. Il était donc inutile d'étalonner l'interféromètre pour des absorptions plus élevées.

La figure 13 montre qu'entre 15,8 et 110 MHz les mélanges utilisés ne présentent pas de relaxation. Ce résultat ainsi que d'autres que nous allons donner, permet de supposer qu'entre 3,5 et 15,8 MHz, $\alpha/_{N}{}^{2}$ reste également constant, ou tout au moins varie très peu. En effet, bien que la méthode interférométrique ne permette pas de déterminer des absorptions en valeur absolue, il est à signaler que nous n'avons jamais observé entre 3,5 et 21 MHz, au cours des nombreuses mesures que nous avons faites, une absorption spécifique systématiquement plus élevée à basse fréquence, pour ces mélanges. De plus, certaines mesures effectuées par WILLIS[14] entre 3,8 et 19,2 MHz, semblent également indiquer que les mélanges que nous avons utilisés ne relaxent pas dans ce domaine de fréquence.

Sur la figure 14 nous avons porté les valeurs de $\frac{\alpha_1}{\alpha_2}$, obtenues d'une part par la technique d'impulsions (courbe 1) et d'autre part par interférométrie (courbes 2,3 et 4). Signalons que les valeurs de $\frac{\alpha_1}{\alpha_2}$ obtenues par interférométrie pour ces mélanges étaient comprises, en général, entre les courbes 2 et 4.

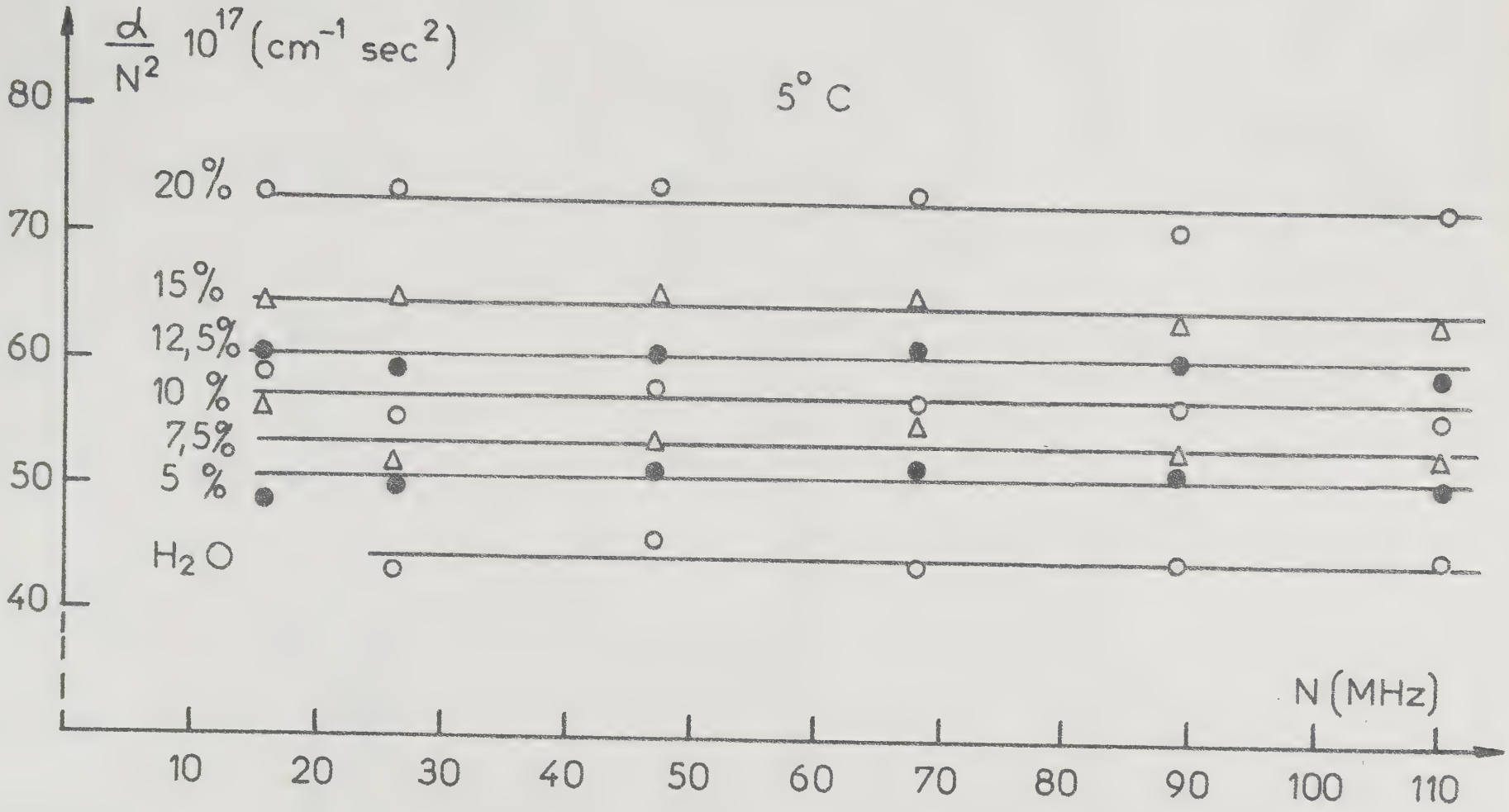
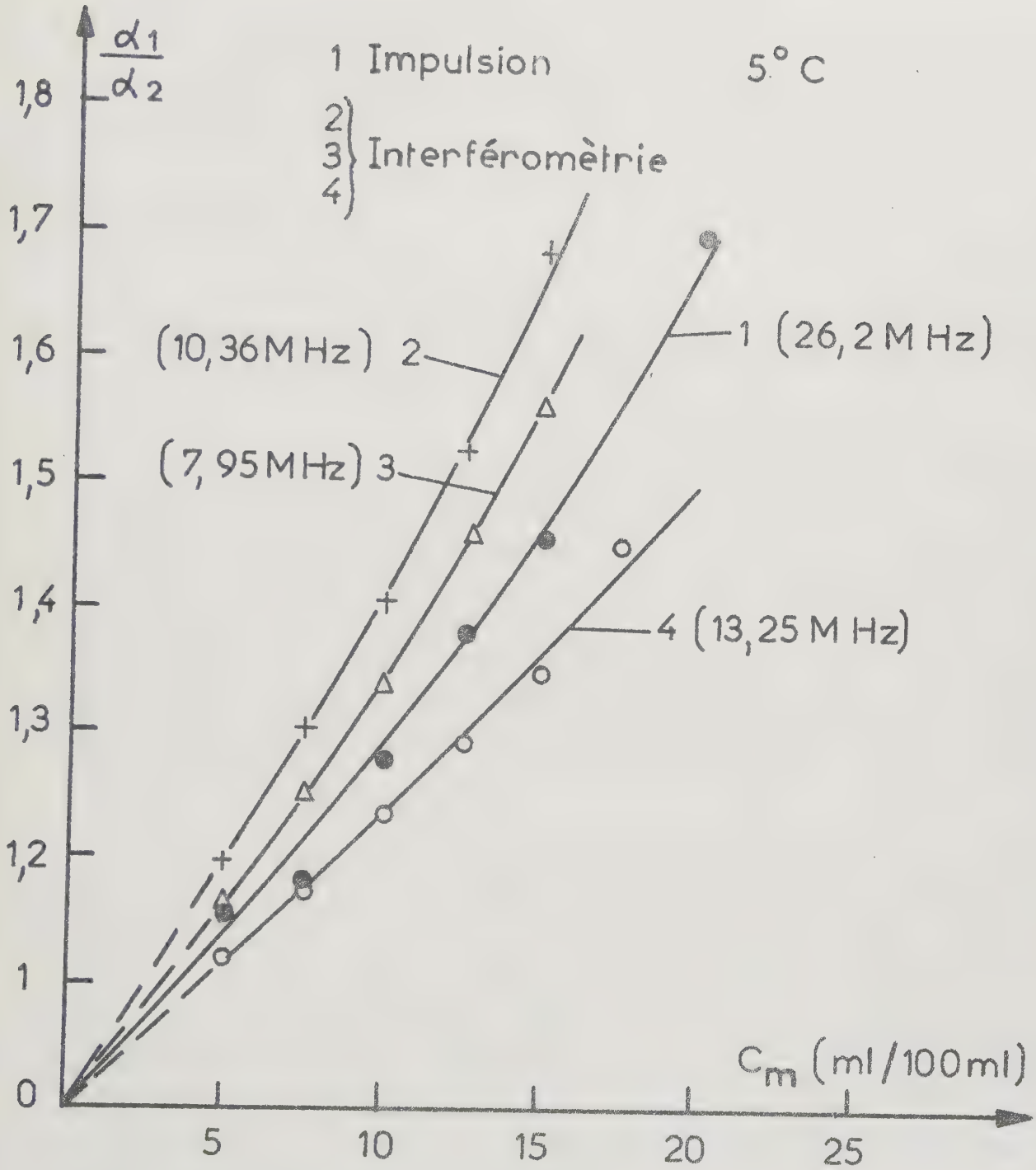

$\frac{\alpha}{N^2}$ 10^{17} (cm^{-1} sec^2)
5° C
20%
15%
12,5%
10 %
7,5%
5 %
H_2O
80
70
60
50
40
N (MHz)
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110

Figure 14


α1/α2
1 Impulsion
5° C
2
3 Interféromètrie
4
1,8
1,7
1,6
1,5
1,4
1,3
1,2
1
0
(10,36 MHz) 2
(7,95 MHz) 3
1 (26,2 MHz)
4 (13,25 MHz)
Cm (ml/100ml)
5
10
15
20
25

Rappelons que les réseaux de courbes comme celui-ci permettent de corriger les valeurs de $\frac{\alpha}{\alpha_o}$ obtenues pour la solution par interférométrie.

III. SOLUTIONS D'ADN

Les mesures de spectroscopie ultrasonore ont été effectuées sur quatre échantillons d'ADN de thymus de veau, appelés respectivement V212,V281, V293 et V309.

Les échantillons d'ADN ont été dissous dans l'eau contenant des quantités de sel variables qui seront précisées. Nous avons utilisé des concentrations d'ADN relativement élevées, voisines de 0,6 g/100ml. Même avec de telles concentrations les absorptions mesurées n'ont pas dépassé, dans la plupart des cas, de plus de 15 % la valeur de l'absorption de l'eau ; c'est pourquoi nous avons pris soin d'effectuer les étalonnages précédemment décrits (première partie, chapitre I, §V) pour chaque mesure d'absorption.

Les solutions ont été préparées de la manière suivante. Nous avons d'abord dissous les fibres d'ADN dans de l'eau bidistillée et soumis cette solution à une agitation pendant quatre jours à 5°C. Nous avons ensuite ajouté à cette solution la quantité convenable d'eau bidistillée contenant le sel afin d'obtenir la concentration et la teneur en sel désirées, puis nous l'avons soumise à une nouvelle agitation pendant trois jours à 5°C. Les concentrations ont ensuite été déterminées avec précision par des mesures de densité optique à 260 mμ.

A) Pour chacun des quatres échantillons nous avons déterminé le spectre d'une solution contenant du chlorure de sodium 0,18M et du citrate de sodium 0,02M.

B) Des études particulières ont été faites sur l'échantillon V281.

a) Nous avons d'abord déterminé le spectre d'une solution dans laquelle nous n'avions pas ajouté de sel. Toutefois, l'échantillon étant en réalité un sel de sodium de l'ADN, la solution contenait une certaine quantité de sodium (Na^+). Celle-ci était égale à 2.10^{-2}M environ, puisque la concentration en ADN de la solution était de 0,59 g/100 ml.

b) Nous voulions également déterminer le spectre ultrasonore d'un ADN de faible masse moléculaire. Dans ce but nous avons soumis une solution contenant l'échantillon V281 à l'action d'un rayonnement ultrasonore intense, en utilisant un désintégrateur Mullard type 3100. La solution contenait en outre 0,18 M de chlorure de sodium et 0,02 M de citrate de sodium ; par conséquent la teneur en sel était la même que pour l'étude de l'échantillon non dégradé. Les masses moléculaires avant et après l'action des ultrasons, déterminées par des mesures de diffusion de la lumière, étaient respectivement égales à $4,7.10^6$ et 10^5. Rappelons que les mesures antérieures [15-16] avaient montré que la masse moléculaire de l'ADN ne diminue pas d'une façon régulière, sous l'action d'un rayonnement ultrasonore intense. Lorsque la molécule d'ADN atteint la masse de 500.000 environ, elle résiste à l'action du rayonnement ultrasonore pendant un certain temps avant de se briser à nouveau. On notera que la masse moléculaire obtenue ici était inférieure à

celle de ces segments résistants de masse égale à 500.000.

c) Nous voulions également étudier un échantillon d'ADN dénaturé. C'est pourquoi nous avons porté une solution contenant l'échantillon V281 à 90°C pendant 30 minutes, puis nous l'avons plongée dans un réfrigérant. Cette solution ne contenait pas de sel additionnel ; par contre nous y avions ajouté une faible quantité de formaldéhyde. Après ce traitement par la chaleur nous avons déterminé la courbe de fusion de l'échantillon pour nous assurer qu'il avait été dénaturé complètement.

IV. RESULTATS

A) La figure 15 représente les variations de α_{sp}/C en fonction de la fréquence pour les quatre échantillons d'ADN. Les concentrations étaient égales à 0,59g/100ml pour les V212 et V281 et 0,58g/100ml pour les V293 et V309. Précisons que la détermination de α_{sp} a été faite, pour toutes les solutions d'ADN que nous avons étudiées, en prenant comme solvant (α_o) une solution aqueuse de teneur en sel identique à celle de la solution d'ADN. La valeur obtenue pour α_o a toujours été très peu différente de celle de l'eau.

Les masses moléculaires des quatres échantillons sont également données sur la figure 15. Cette figure montre que les spectres de ces quatre échantillons d'ADN ne présentent pas de différences importantes. La quantité α_{sp}/C décroit lorsque la fréquence augmente ce qui indique l'existence de processus de relaxation. Soulignons qu'aucun de nos spectres ne présente le maximum d'absorption observé par LITZLER et CERF dans ce domaine

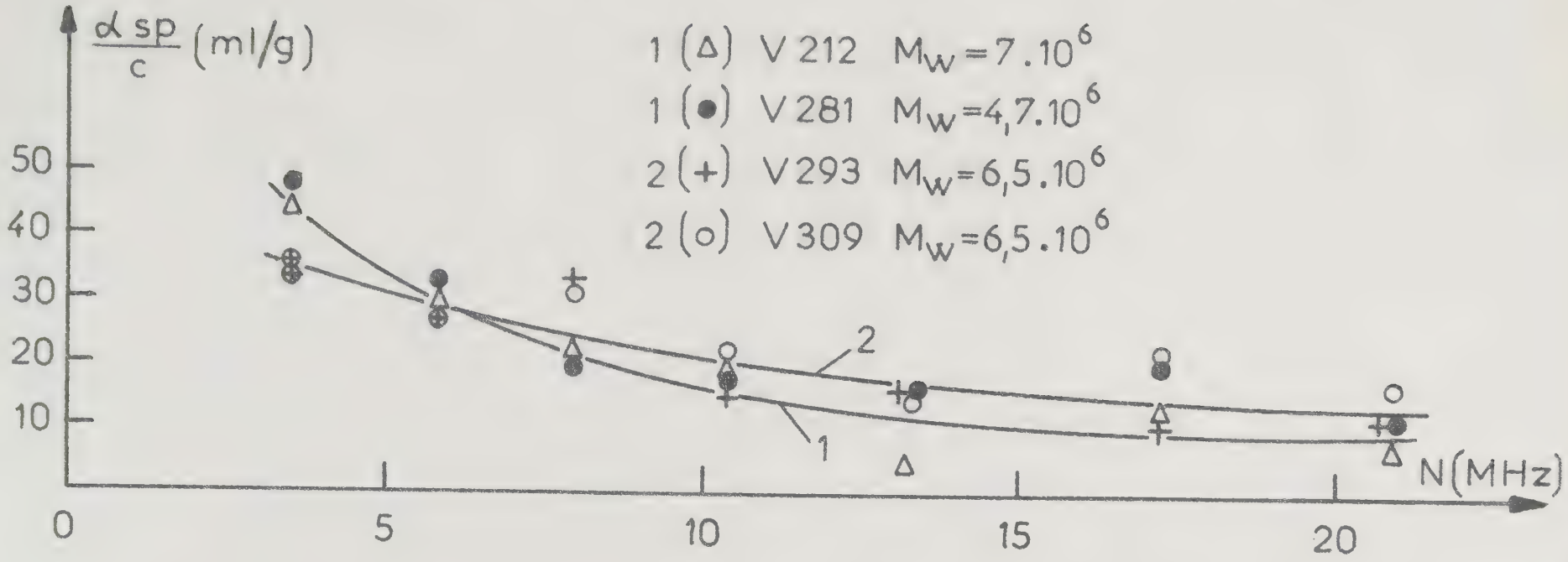

0,18 M NaCl + 0,02 M Na Citrate 5°C pH-7
α sp / c (ml/g)
1 (Δ) V 212 $M_w = 7.10^6$
1 (●) V 281 $M_w = 4,7.10^6$
2 (+) V 293 $M_w = 6,5.10^6$
2 (o) V 309 $M_w = 6,5.10^6$
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
N(MHz)
1
2

Figure 15

de fréquence.

Sur l'échantillon V212 nous avons effectué des mesures d'absorption jusqu'à 57,6 MHz. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 16 ; à partir de 20 MHz l'absorption ne décroit plus que très légèrement.

B)Pour tenter de trouver l'origine de ces relaxations nous avons effectué sur l'échantillon V281 des mesures particulières.

a) Sur la figure 17 nous comparons le spectre d'absorption obtenu pour des solutions de teneurs en sel différentes.Les concentrations en ADN étaient égales à 0,60g/100ml pour la solution ne contenant que du chlorure de sodium et 0,59g/100ml pour l'autre. Entre 5 et 21MHz les spectres sont pratiquement confondus. A 3,5MHz les valeurs de α_{sp}/C sont légèrement différentes.

b) Sur la figure 18 nous comparons les spectres de l'échantillon V281 effectués avant et après dégradation, aux concentrations respectives de 0,59 et 0,50g/100ml. Ces résultats semblent indiquer qu'il n'y a pas d'effet de la masse moléculaire de l'ADN sur le spectre ultrasonore, tout au moins pour des masses comprises entre 10^5 et $4,7.10^6$.

c) Les résultats de la figure 19 montrent que le spectre ultrasonore entre 3,5 et 21 MHz n'est pas non plus sensible aux variations de structure qui existent entre un ADN natif et un ADN dénaturé; cette figure représente en effet les variations de α_{sp}/C pour l'échantillon V281 natif et dénaturé par l'action de la chaleur dans les conditions précédemment décrites. Les concentrations étaient respectivement de 0,59 et 0,57g/100ml.

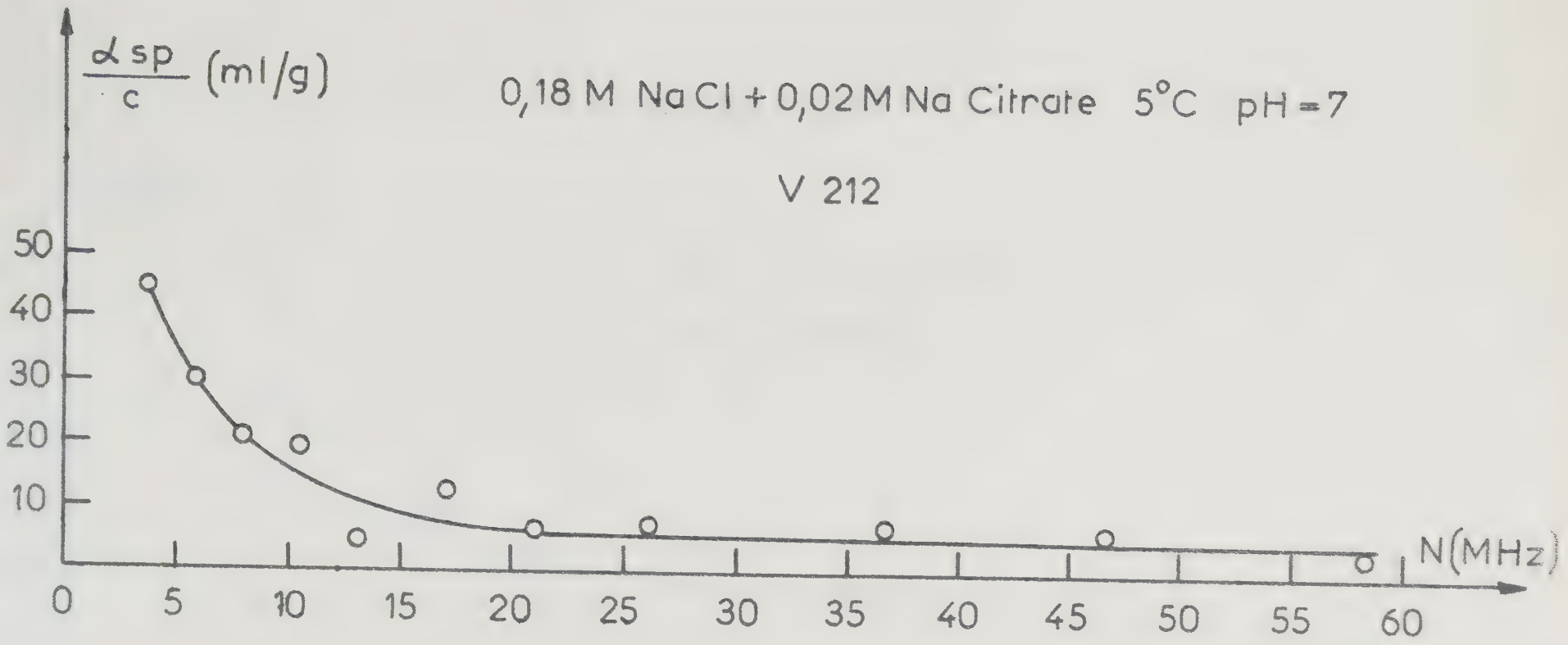

$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
0,18 M NaCl + 0,02 M Na Citrate 5°C pH = 7
V 212
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
N(MHz)

Figure 16

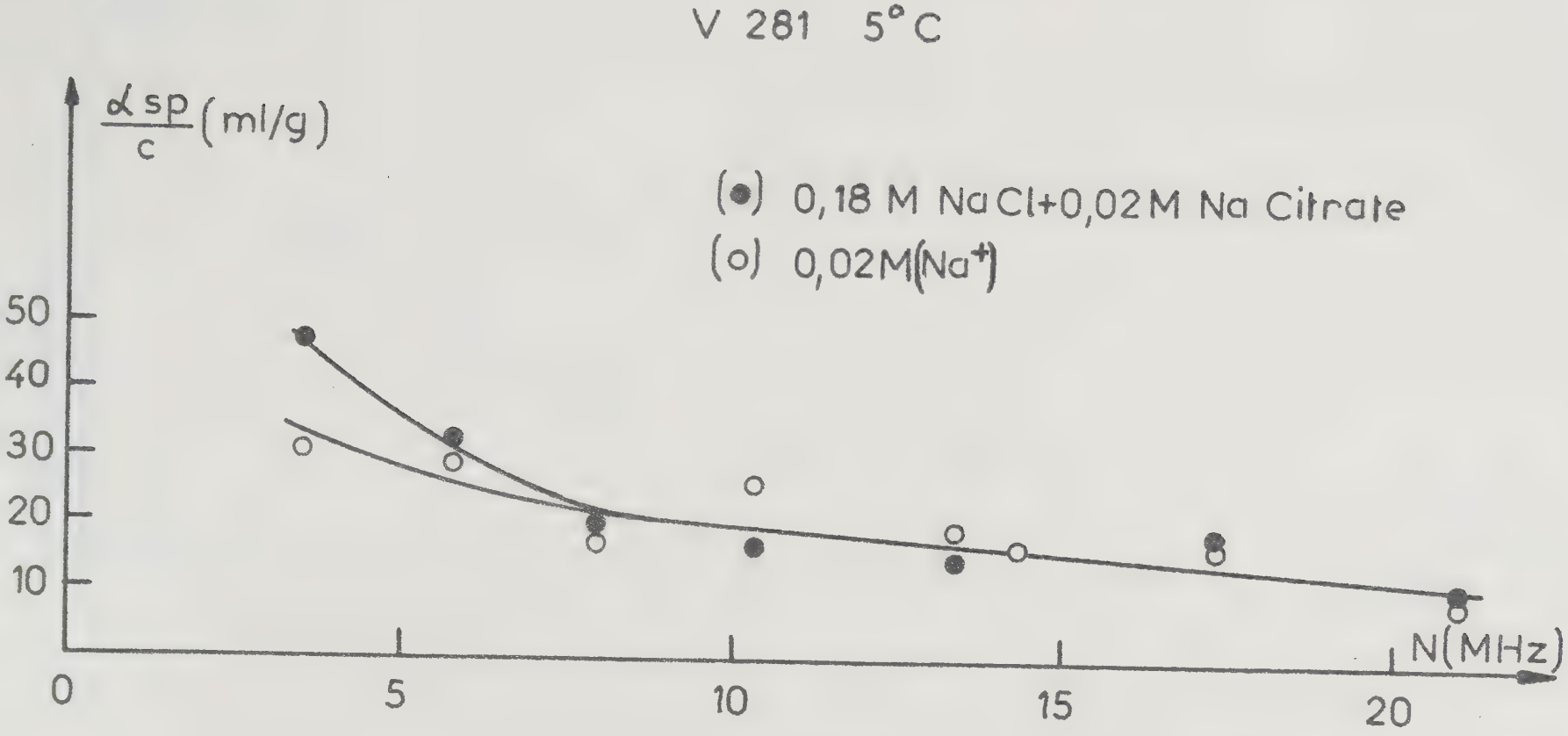

V 281 5° C
$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
(•) 0,18 M NaCl+0,02 M Na Citrate
(o) 0,02 M(Na⁺)
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
N(MHz)

Figure 17

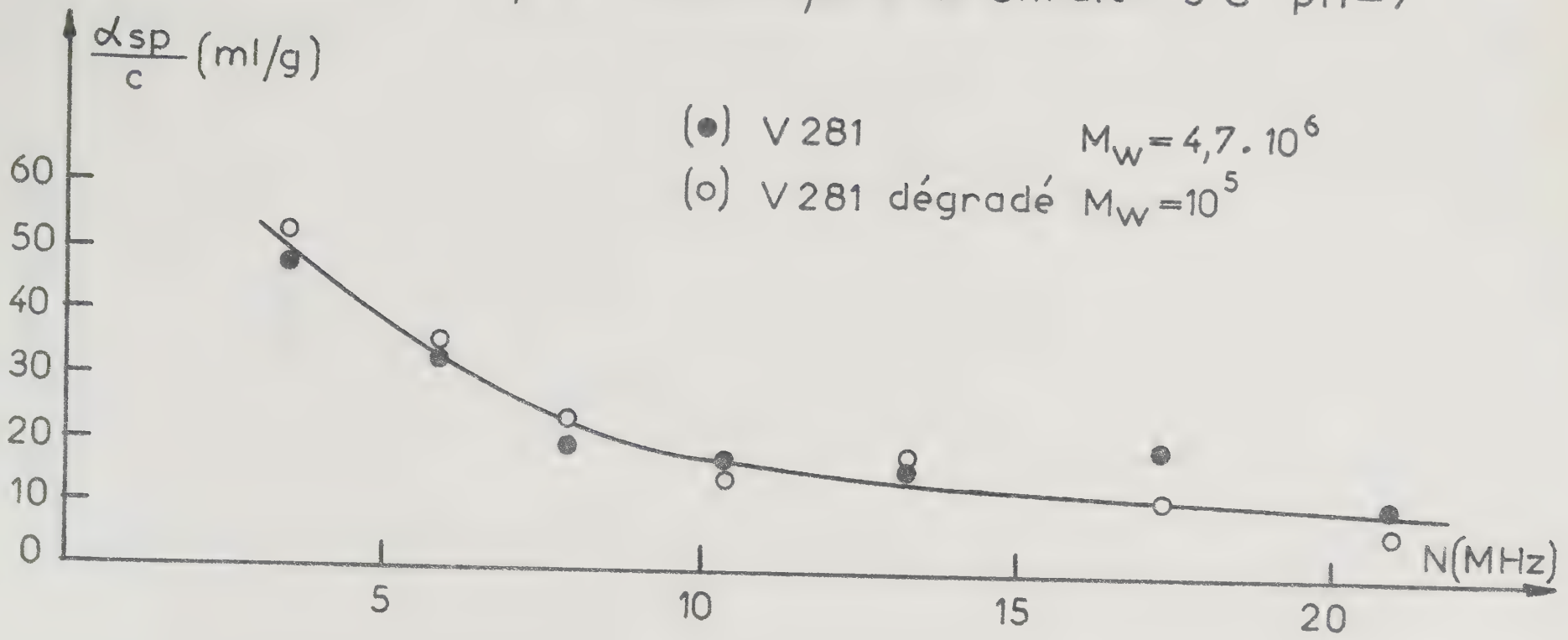

0,18 M NaCl + 0,02 M Na Citrate 5°C pH=7
$\frac{\alpha sp}{c}$ (ml/g)
(•) V 281 $M_w = 4,7 . 10^6$
(o) V 281 dégradé $M_w = 10^5$
60
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
N(MHz)

Figure 18

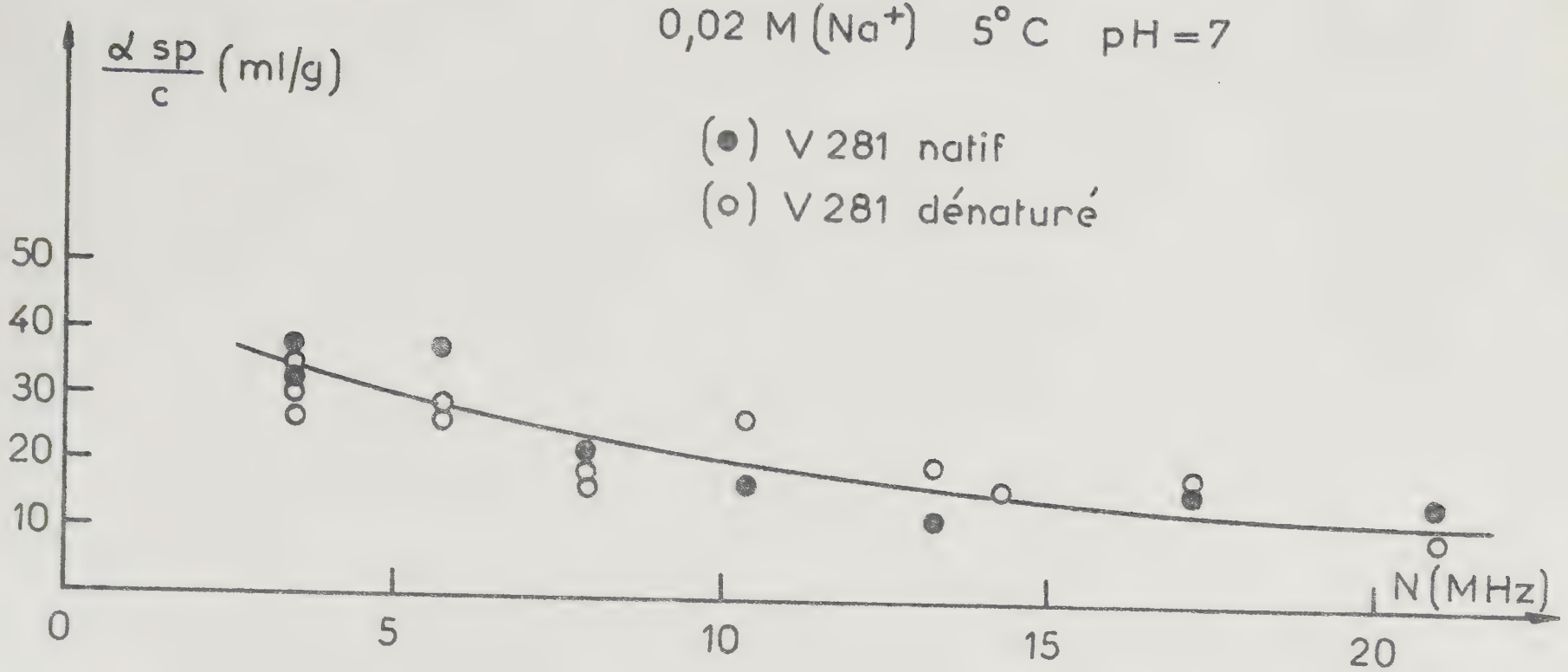

0,02 M (Na+) 5° C pH = 7
(●) V 281 natif
(○) V 281 dénaturé
α sp / c (ml/g)
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
N (MHz)

Figure 19

Nous donnerons au chapitre suivant le spectre d'absorption d'une solution d'ADN, déterminé à 25°C. C'est pourquoi nous discuterons les résultats des mesures de spectroscopie par la suite (conclusion aux chapitres II et III).

CHAPITRE III

ETUDE DE LA DENATURATION ALCALINE DE L'ADN

I. INTRODUCTION

De nombreux polymères, naturels ou de synthèse présentent une structure secondaire qui peut être altérée à la suite de différents traitements. C'est ainsi que si l'on fait croître le pH d'une solution d'ADN au dessus d'un certain seuil on produit sa dénaturation, c'est-à-dire l'écroulement de la structure en double hélice. Cette dénaturation a fait l'objet de nombreuses études. Elle a pu être suivie en particulier par des mesures de viscosité [17-18-19], d'absorption ultraviolette[20-21], de diffusion de la lumière[19] et de sédimentation[19-22].

L'intérêt des mesures d'absorption ultrasonore pour l'étude de transitions entre différentes structures a été mis en évidence par ZANA, CANDAU et CERF[23]. Les mesures montrèrent d'une part une différence d'absorption des deux formes moléculaires, d'autre part, dans certains cas l'existence d'un maximum de l'absorption dans la zone de transition.

Récemment SCHWARZ[24-25] a donné un traitement théorique fondé sur le fait qu'un équilibre entre les deux formes de la molécule doit se manifester par un excès d'absorption dans la zone de transition. De plus, du fait que la transition est coopérative, SCHWARZ prévoit que le maximum doit être aigu. Enfin, selon cet auteur, le maximum doit se présenter exactement pour le pH fournissant autant de motifs élémentaires sous les formes hélice et chaîne,

donc à mi-transition.

SCHWARZ a pu confirmer la validité de ce point de vue, à la fois à partir des mesures de ZANA, CANDAU et CERF et des siennes propres[24]. SAKSENA, MICHELS et ZANA[26] ont récemment publié de nouveaux résultats concernant un acide poly-L-glutamique, lesquels sont aussi en accord avec la théorie de SCHWARZ.

Nous avons également observé des maxima de l'absorption ultrasonore en fonction du pH dans les solutions d'ADN. Il ne semble pas toutefois que le maximum se présente à la mi-transition.

II. MESURES D'ABSORPTION ULTRASONORE.MELANGES EAU-GLYCERINE

Ces mesures ont été faites à 25°C. La détermination des variations d'absorption ultrasonore en fonction du pH, à une fréquence donnée, est en effet plus rapide que la détermination d'un spectre d'absorption ; il a été possible d'effectuer les mesures en un temps suffisamment court pour que les solutions ne se détériorent pas.

Nous avons effectué la dénaturation pour deux échantillons d'ADN de thymus de veau, appelés respectivement V281 et V236.

La dénaturation de l'ADN V281 a été suivie à sept fréquences différentes, ce qui nous a permis de préciser la forme des spectres de l'ADN à 25°C entre 3,5 et 47,1 MHz.

Les résultats ont été obtenus en utilisant selon les fréquences, soit la méthode interférométrique, soit la méthode impulsionnelle. L'interféromètre a été étalonné, à chaque fréquence, en utili-

sant comme pour les mesures à 5°C, des mélanges eau-glycérine ; leurs concentrations étaient inférieures à 25 ml/100ml. Les valeurs absolues des coefficients d'absorption α_1 de ces mélanges ainsi que la valeur absolue du coefficient d'absorption α_2 de l'eau ont été déterminées par la méthode impulsionnelle. Précisons que nous avons obtenus ainsi, entre 26,2 et 110 MHz, des valeurs moyennes de la quantité $\alpha_1/_N{}^2$ en bon accord avec ceux obtenus par WILLIS [14] pour des concentrations supérieures à 12,5 ml/100ml, et que pour l'eau nous avons obtenu une valeur moyenne de la quantité $\alpha_2/_N{}^2$ égale à $22.10^{-17} cm^{-1} sec^2$, en bon accord avec celle de PINKERTON [27].

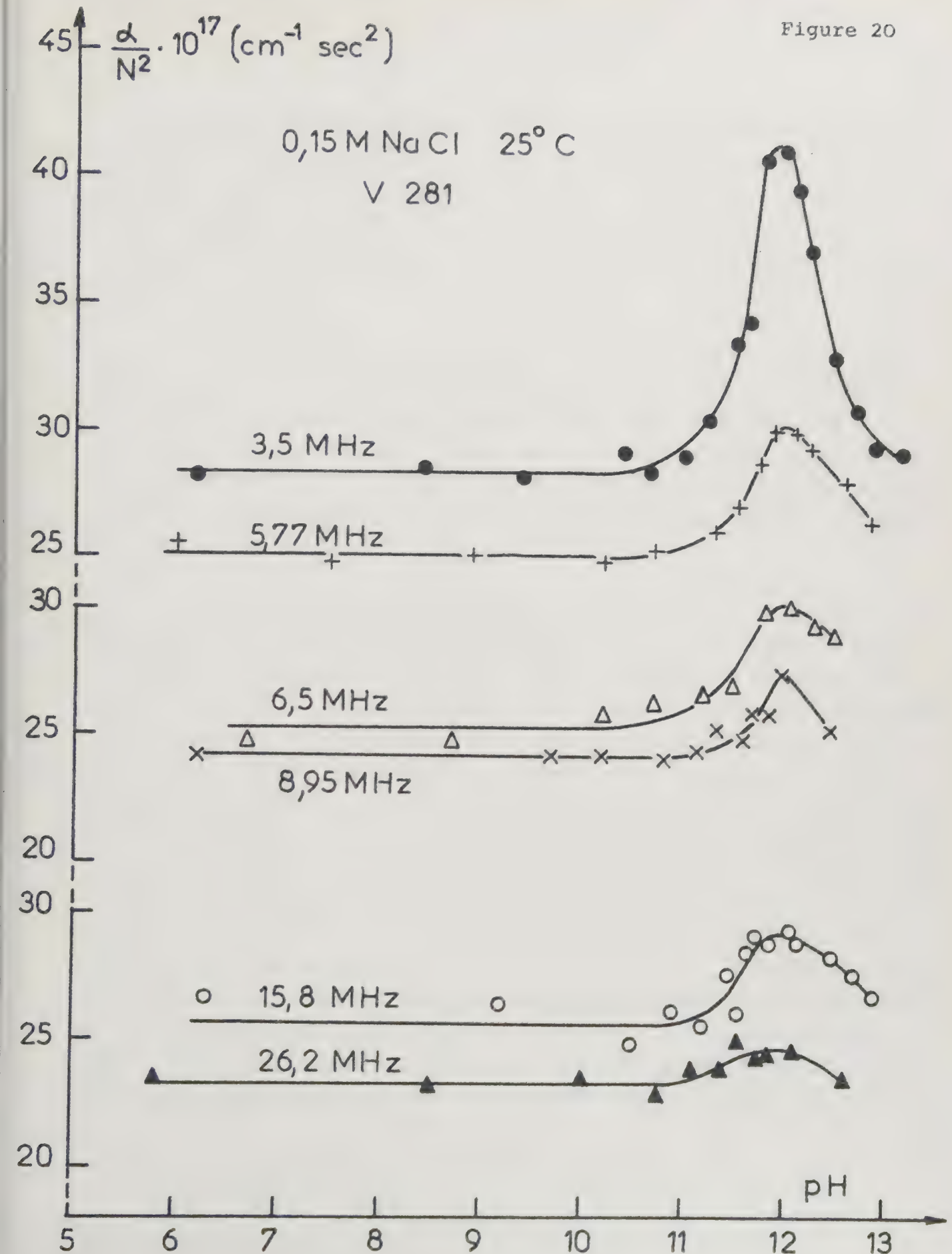
III. SOLUTIONS D'ADN

Les solutions d'ADN ont été préparées de la manière indiquée au chapitre précédent. Nous avons utilisé pour cette étude des concentrations comprises entre 0,27 et 0,32g/100ml. La teneur en sel de toutes ces solutions était de 0,15M en Nacl. A chaque fréquence les mesures ont été effectuées sur une solution fraîche. La dénaturation de l'ADN a été obtenue par addition de faibles quantités d'une solution de NaOH de molarité variable selon le pH, comprise entre 0,1M pour les faibles pH et 4M pour les pH élevés.

IV. RESULTATS

Sur la figure 20 nous avons porté les résultats obtenus pour l'échantillon V281, à des concentrations voisines de 0,30g/100ml. La variation de $\alpha/_N{}^2$ en fonction du pH montre, aux fréquences comprises entre 3,5 et 26,2MHz, un maximum d'absorption pour une valeur

Figure 20


$\frac{\alpha}{N^2} \cdot 10^{17}$ (cm^{-1} sec^2)
0,15 M Na Cl 25° C
V 281
3,5 MHz
5,77 MHz
6,5 MHz
8,95 MHz
15,8 MHz
26,2 MHz
pH
45
40
35
30
25
30
25
20
30
25
20
5
6
7
8
9
10
11
12
13

du pH indépendante de la fréquence et qui se situe entre les pH 11,9 et 12. L'amplitude de ce maximum décroit lorsque la fréquence augmente. Des mesures faites à 47,1 MHz, n'ont du reste révélé aucune variation de $\alpha/_N{}^2$ en fonction du pH. La figure 20 montre encore que pour les valeurs du pH comprises entre 6 et 10,5, $\alpha/_N{}^2$ reste constant à une fréquence donnée.

Sur la figure 21 nous avons porté les résultats de deux séries de mesures faites sur l'échantillon V236 de masse moléculaire 4.10^6. Pour les deux concentrations étudiées, 0,27 et 0,30g/100ml, la quantité $\alpha/_N{}^2$ présente la même variation en fonction du pH que dans le cas précédent ; cette quantité reste constante pour les pH inférieurs à 11, et présente un maximum d'absorption entre les pH 11,9 et 12.

Rappelons que des résultats antérieurs[19] ont montré que la dénaturation de l'ADN de thymus de veau par élévation du pH, se faisait au voisinage du pH 11,7 et qu'elle était complète au dessus du pH 11,9. De notre côté, nous avons observé pour nos échantillons une brusque variation de l'absorption ultraviolette au pH 11,7 environ. Cependant une différence importante existait entre nos mesures d'absorption ultraviolette et nos mesures d'absorption ultrasonore. Pour ces dernières nous avons utilisé des concentrations soixante fois plus élevées que pour les mesures d'absorption ultraviolette. Nous avons voulu voir si pour ces concentrations élevées la dénaturation se faisait également au pH 11,7. Nous avons donc effectué des mesures de pouvoir rotatoire sur des solutions de concentrations 0,28g/100ml. Les figures 22 et 23 donnent les variations du pouvoir rotatoire spécifique à 589mμ et à 25°C, respectivement pour l'échantillon V281 et V236. On voit que la mi-transition se fait pour ces concentrations élevées également au voisinage du pH11,7.

Figure 21

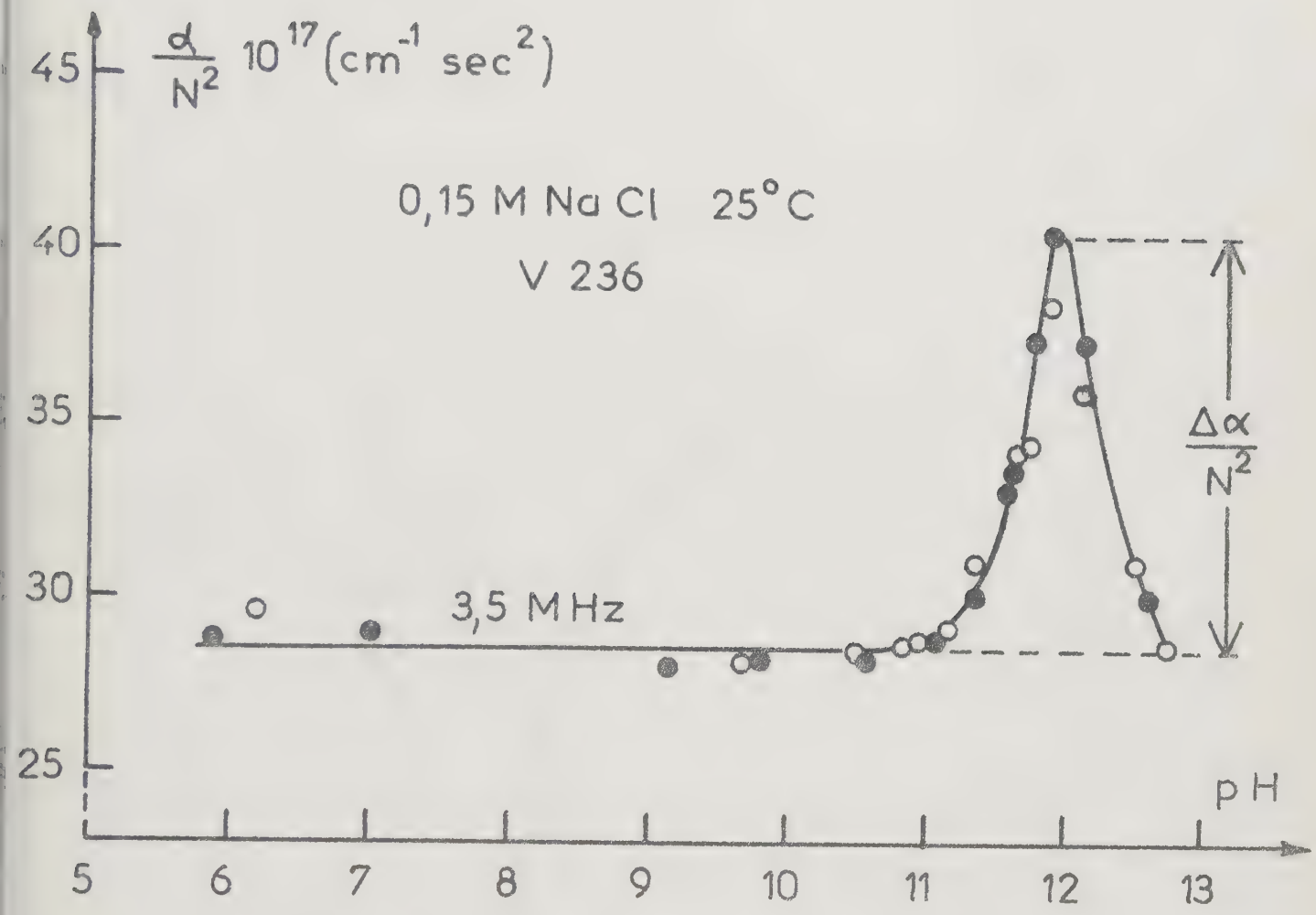

$\frac{\alpha}{N^2}$ 10^{17} (cm^{-1} sec^2)
45
40
35
30
25
0,15 M Na Cl 25°C
V 236
3,5 MHz
$\frac{\Delta\alpha}{N^2}$
pH
5
6
7
8
9
10
11
12
13

Figure 22

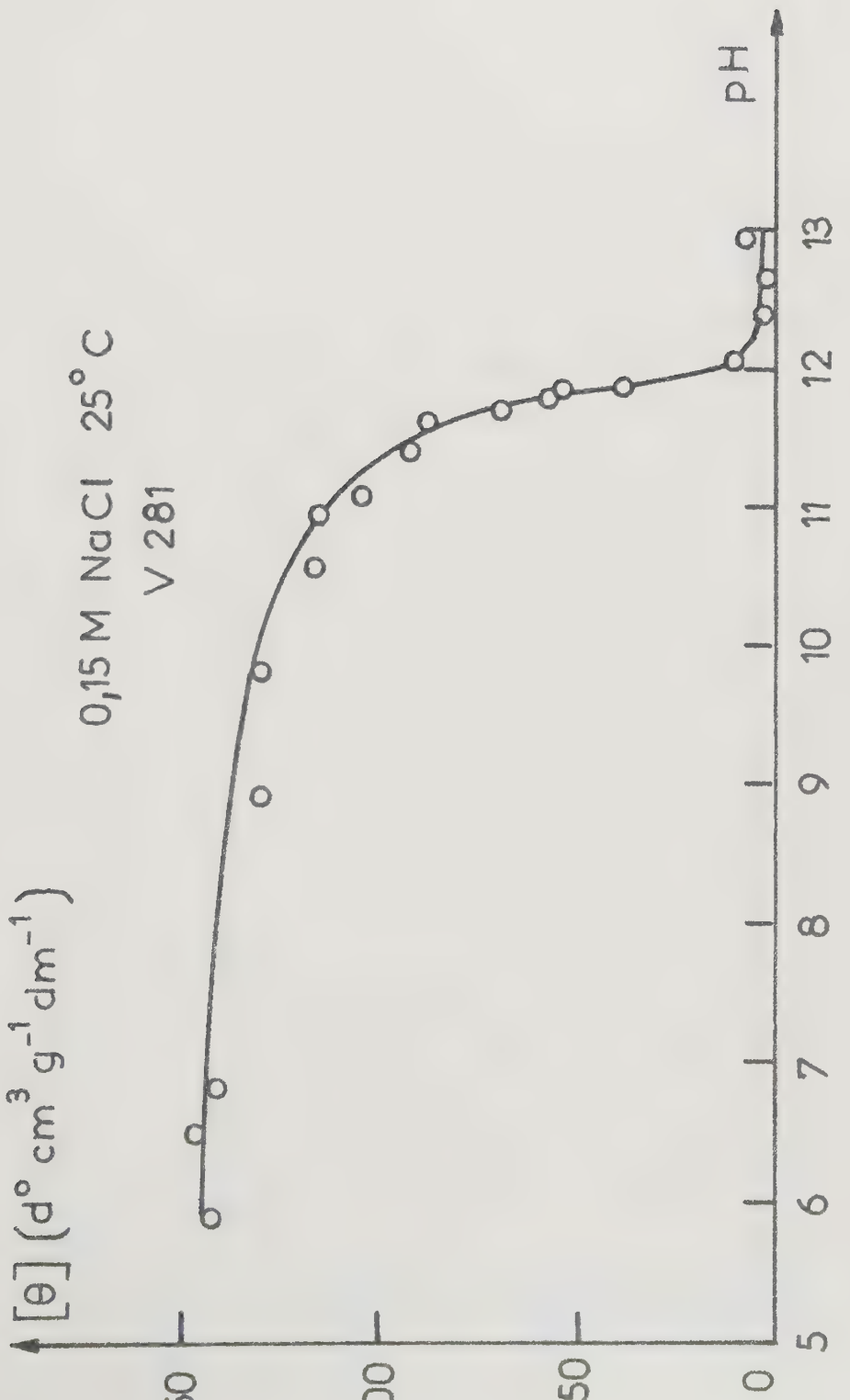
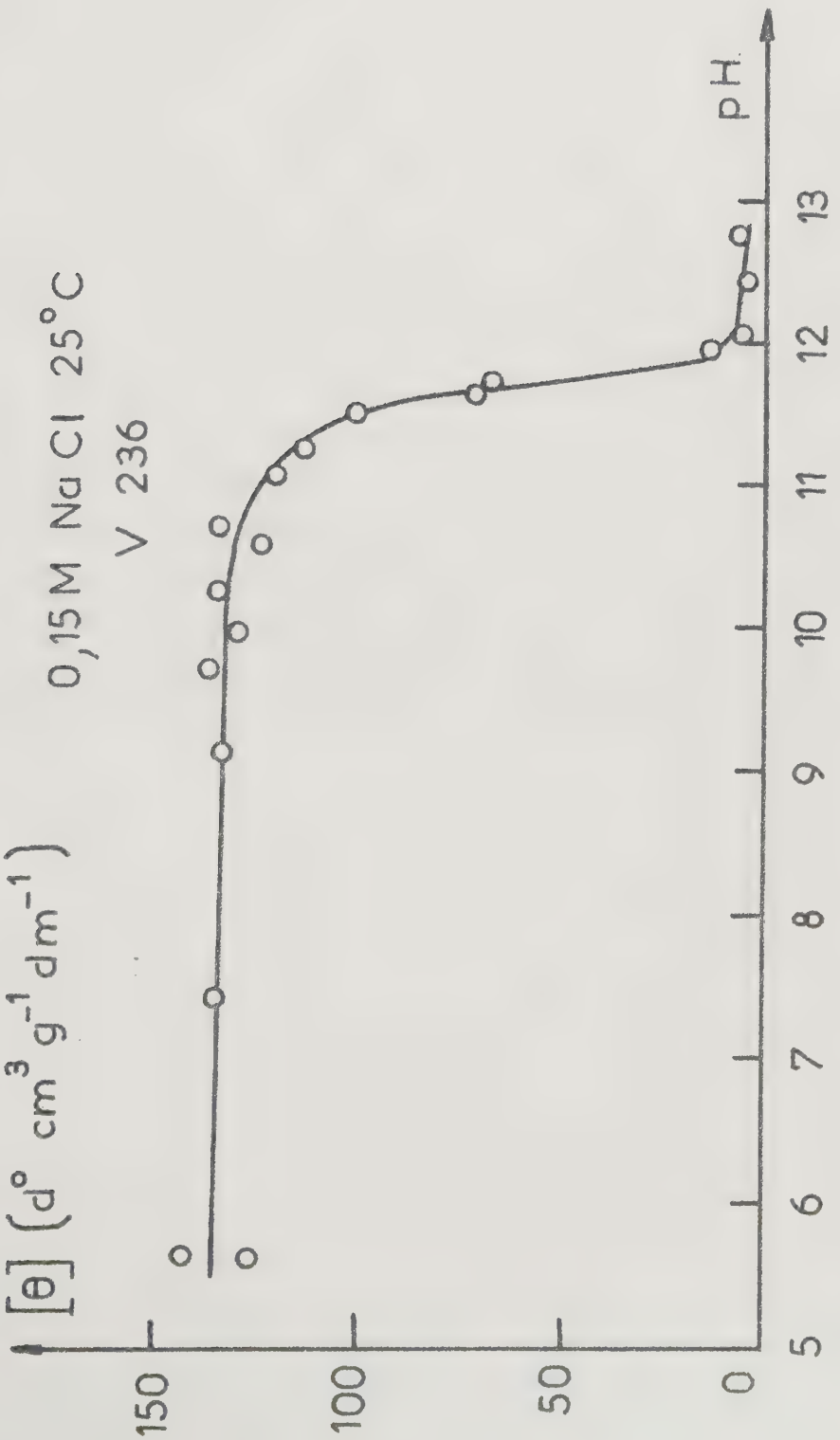


Figure 23



En se reportant aux résultats de la figure 20, on constate que,quelque soit le pH, c'est-à-dire aussi bien pour l'ADN sous forme de double hélice (6<pH< 11) qu'au cours de sa dénaturation (pH>11), $\alpha/_N 2$ diminue lorsque la fréquence augmente, ce qui indique l'existence de processus de relaxation. Cette décroissance de l'absorption en fonction de la fréquence est représentée sur la figure 24 où nous avons porté les valeurs de $\alpha/_N 2$ en fonction de la fréquence pour les pH 7 ; 12 et 12,5. On sait qu'à 47,1 MHz ces courbes se rejoingent, puisqu'à cette fréquence nous n'avons pas observé de maximum d'absorption en fonction du pH. Nous retrouvons là des décroissances analogues à celles que nous avons obtenues à 5°C. Rappelons notamment qu'aucune différence n'avait été observée entre les spectres d'absorption ultrasonore des solutions d'ADN natif et dénaturé ; dans le cas présent nous voyons (figure 24) qu'après la transition (pH=12,5) les valeurs de $\alpha/_N 2$ se rapprochent de celles obtenues pour l'ADN natif (pH=7). Il faut cependant remarquer que ces deux dénaturations sont différentes ; en particulier, au cours de la dénaturation thermique des molécules de formaldéhyde se sont fixées sur les groupes aminés[28].

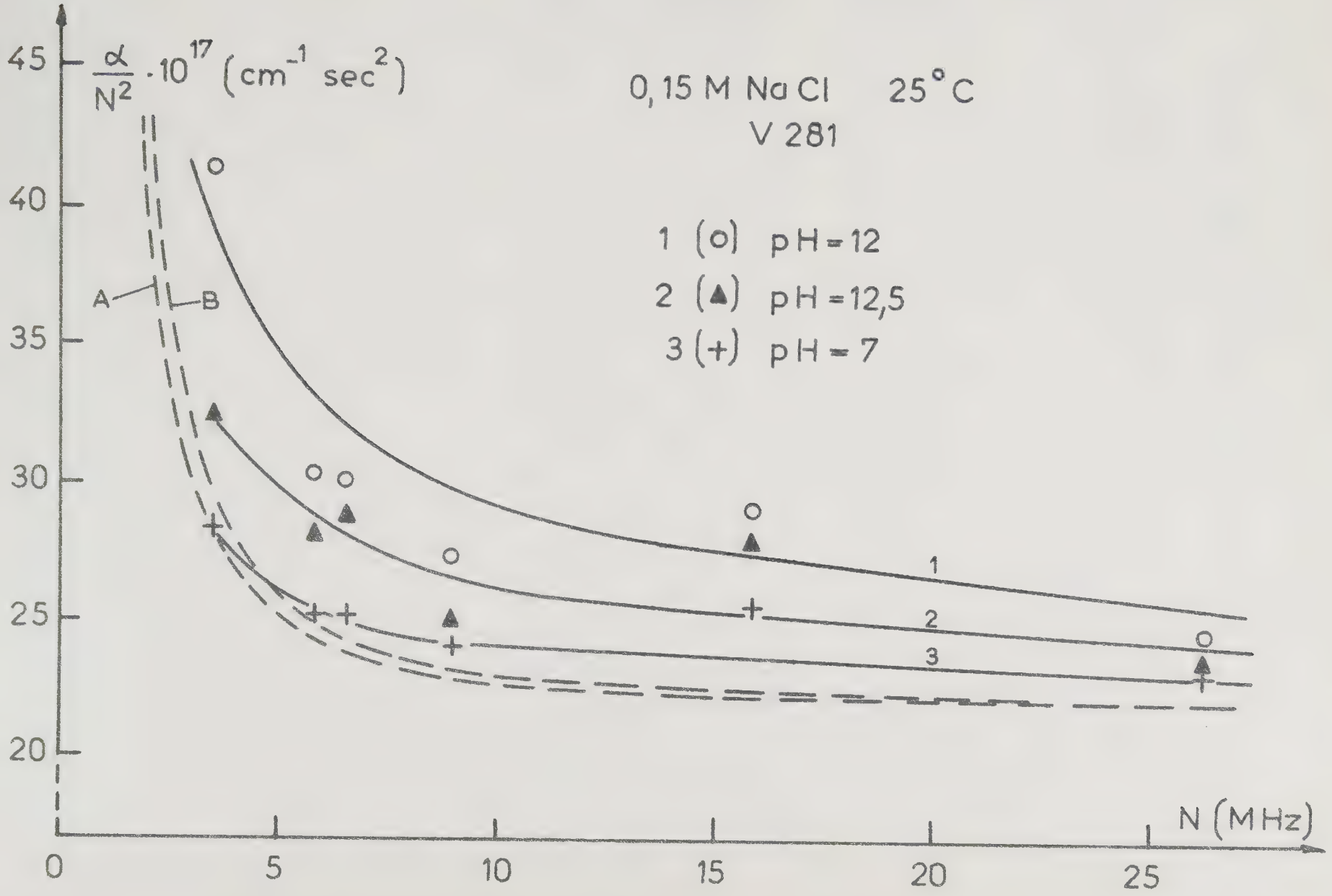

$\frac{\alpha}{N^2} \cdot 10^{17}$ (cm^{-1} sec^2)
0,15 M Na Cl 25°C
V 281
1 (o) pH = 12
2 (▲) pH = 12,5
3 (+) pH = 7
A
B
45
40
35
30
25
20
0
5
10
15
20
25
N (MHz)

Figure 24

REMARQUE RELATIVE A LA DENATURATION ACIDE

Nous avons également essayé de suivre par absorption ultrasonore la dénaturation acide de l'ADN. Pour une certaine valeur du pH cependant l'ADN a précipité, de sorte qu'il n'a pas été possible de suivre entièrement cette dénaturation.

Nous avons préparé une solution d'ADN à la concentration de 0,28g/100ml, sans mettre de sel additionnel ; cette solution contenait par conséquent 0,01 M de (Na^+) . Nous avons abaissé le pH de la solution en ajoutant de faibles quantités d'une solution d'HCl de molarité variable selon le pH.

La figure 25 représente les résultats des mesures d'absorption ultrasonore faites à 3,5MHz. Comme l'indiquent les flèches sur cette figure, nous avons d'abord essayé de suivre la dénaturation acide (flèche 1) de l'ADN. Pour une valeur du pH voisine de 3 l'ADN a précipité. Nous avons alors neutralisé la solution et suivi la dénaturation alcaline de l'ADN (flèche 2). Remarquons que le maximum d'absorption observé ici à la même amplitude que dans les cas précédents (figure 20 et 21).

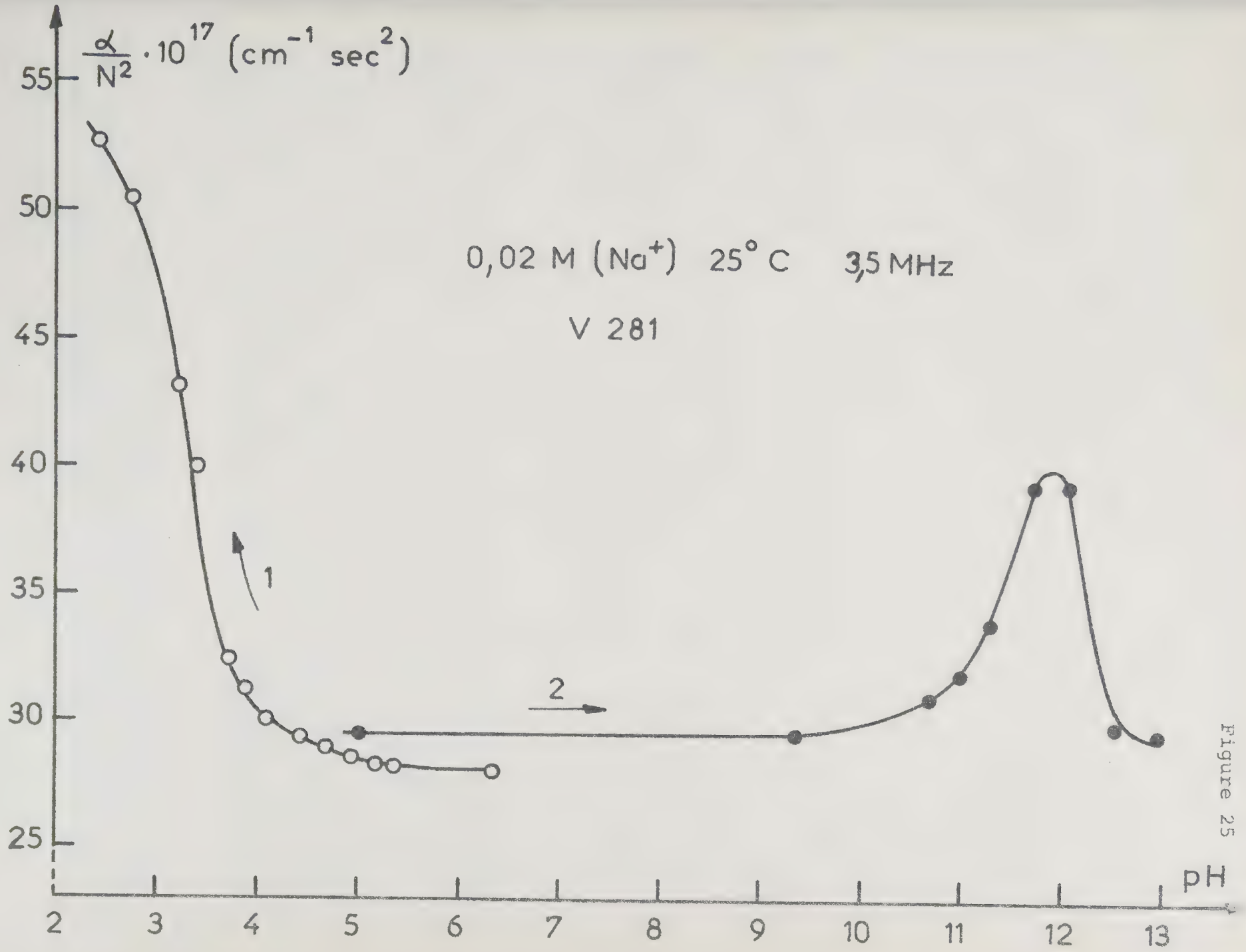

$\frac{\alpha}{N^2} \cdot 10^{17}$ (cm^{-1} sec^2)
55
50
45
40
35
30
25
0,02 M (Na^+) 25° C 3,5 MHz
V 281
1
2
pH
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

Figure 25

CONCLUSION AUX CHAPITRES II ET III

1)On sait que l'absorption ultrasonore α de certains liquides est due principalement à leur viscosité de cisaillement η. Dans ce cas les deux grandeurs α et η sont liées par la relation de Stockes :

$$\frac{\alpha}{N^2} = \frac{8\pi^2\eta}{3\rho v^2} \qquad (4)$$

où ρ est la densité du liquide, et v la vitesse de propagation des ondes dans le liquide.

Il est probable que dans le cas des solutions d'ADN il existe des contributions à l'absorption autres que celle due à la viscosité. Néanmoins, si l'on dispose d'une valeur de la viscosité à fréquence nulle, c'est-à-dire mesurée en écoulement permanent, on peut prévoir une borne inférieure de la limite à fréquence nulle du rapport α/N^2, que l'on désignera $(\alpha/N^2)_o$.

Nous avons mesuré η à l'aide d'un viscosimètre capillaire. La mesure a été faite à 25°C sur une solution contenant 0,30g/100ml d'ADN (V281) et 0,15M de Nacl. La viscosité mesurée à gradient $G = 20.sec^{-1}$ était de 1,5poise. Pour cette solution nous avions en outre $\rho \simeq 1$ et $v \simeq 1{,}5 \cdot 10^5 cm\ sec^{-1}$, de sorte que la valeur de $(\alpha/N^2)_o$ était de $1200 \cdot 10^{-17}\ cm^{-1}\ sec^2$. Remarquons qu'une extrapolation de la viscosité à gradient nul aurait donné une valeur plus élevée de η et pour cette raison également la valeur de $(\alpha/N^2)_o$ ainsi obtenue est une borne inférieure de la limite à fréquence nulle du rapport α/N^2.

Il est possible de tracer une courbe de relaxation classique compatible à la fois avec cette limite à fréquence nulle $(\alpha/N^2)_o$ et avec les valeurs mesurées entre 3,5 et 26 MHz. Ce spectre à un

un temps de relaxation est représenté par la courbe A de la figure 24 ; la fréquence de relaxation est égale à 0,26MHz. Puisque la valeur de $(\alpha/_N 2)_o$ utilisée pour tracer cette courbe de relaxation était une borne inférieure,nous avons également tracé un spectre de relaxation pour une valeur dix fois plus élevée de $(\alpha/_N 2)_o$. Ce spectre est représenté par la courbe B de la figure 24 ; la fréquence de relaxation est égale à 0,09 MHz. On voit qu'aux erreurs expérimentales près, ce spectre est également compatible avec les valeurs mesurées entre 3,5 et 26 MHz.

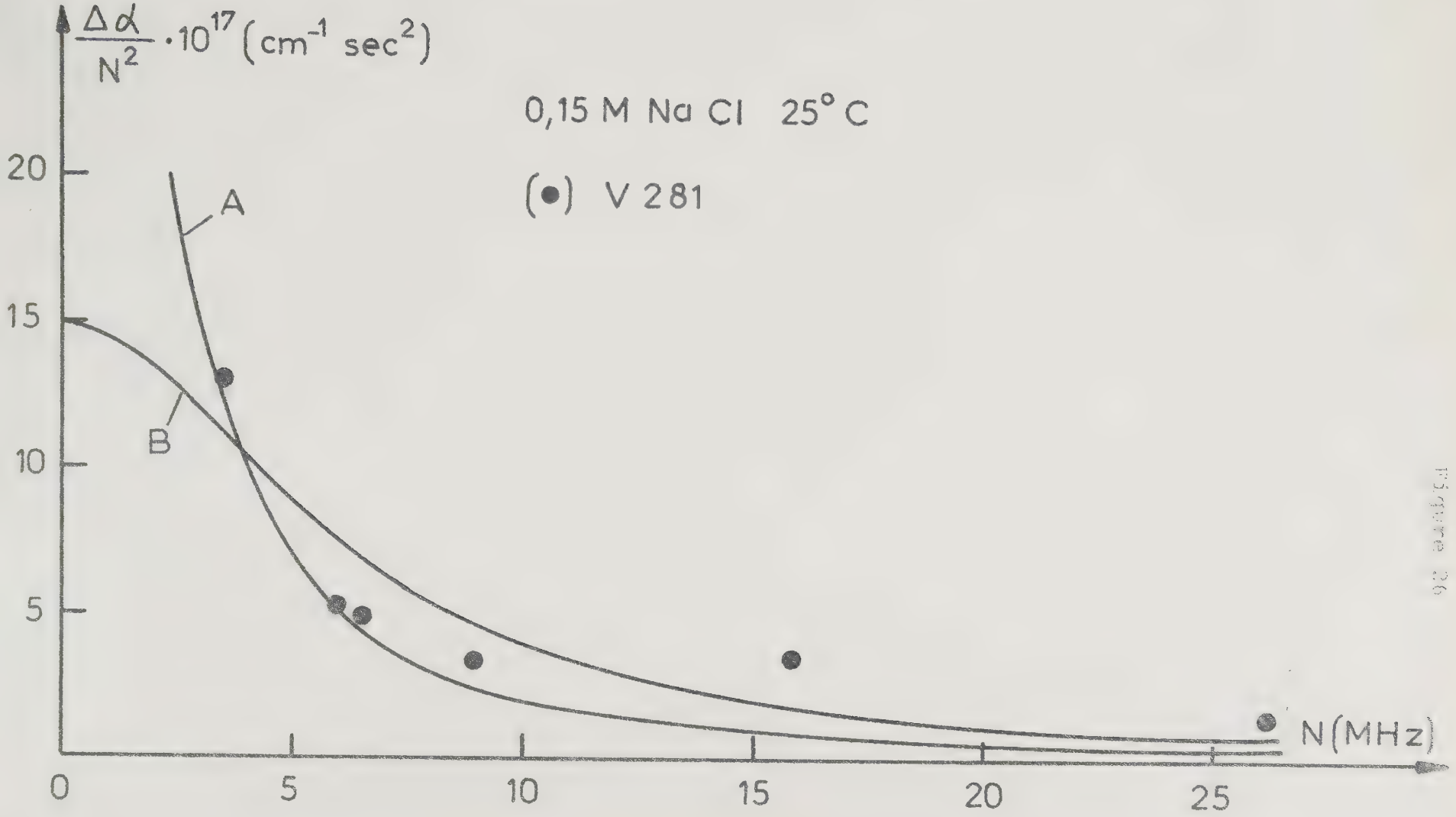
Les résultats concernant l'ADN degradé (figure 18) et dénaturé (figure 19) permettent toutefois difficilement d'admettre que l'absorption ultrasonore de nos solutions soit due à la viscosité. Ces mesures, faites à 5°C, ne révèlent en effet aucune variation de l'absorption ultrasonore pour les solutions d'ADN dégradé ou dénaturé ; dans ce second cas la viscosité était pourtant cent fois plus petite que celle des solutions d'ADN natif. Il semble donc que la fraction de l'absorption due à la viscosité soit très faible entre 3,5 et 26MHz, et il parait plus raisonnable d'admettre que l'on observe une absorption d'une autre nature, qui n'est cependant pas liée à la structure en double hélice. Notons encore que nous n'avons pas observé de différence significative entre les spectres obtenus pour des solutions de teneurs en sel différentes(figure 17).

L'absorption des solutions d'ADN étudiées à pH neutre n'a jamais été supérieure à celle de l'eau de plus de 30 %. A 5°C comme à 25°C, l'absorption la plus élevée a été obtenue pour la fréquence de 3,5 MHz.

2)La transition entre l'état natif et dénaturé de la molécule d'ADN a pu être suivie par des mesures d'absorption ultrasonore. Celles-ci ont fait apparaître un maximum d'absorption ultrasonore en fonction du pH. Des mesures, effectuées à différentes fréquences ont montré que l'excès d'absorption $\frac{\Delta\alpha}{N^2}$ (cf. figure 21) diminuait lorsque la fréquence augmentait pour devenir pratiquement nul aux fréquences supérieures à 47 MHz.

Sans préjuger d'un modèle, il est possible d'évaluer un temps de relaxation moyen empirique, caractérisant les variations de $\frac{\Delta\alpha}{N^2}$ en fonction de N. Ces variations sont représentées par des points (●) sur la figure 26. On a également tracé deux courbes de relaxation A et B compatibles avec les points expérimentaux. Les temps de relaxation relatifs à ces courbes sont égaux respectivement à 2 MHz et à 6 MHz. Le temps de relaxation empirique serait donc compris entre 2 et 6 MHz.

Le maximum d'absorption que nous avons observé au cours de la dénaturation alcaline de l'ADN est analogue à celui précédemment obtenu pour certains polypeptiques. Ici le maximum a cependant toujours été observé à un pH supérieur d'environ deux dixièmes d'unité à celui qui correspond à une diminution de moitié du pouvoir rotatoire. Il ne semble donc pas que les modèles simples à deux états qui ont servi jusqu'à présent aux théories de l'absorption ultrasonore, notamment celle des solutions de polypeptiques[24-25], soient suffisantes ici. Nous pensons qu'il est nécessaire d'envisager au moins trois états de la molécule au cours de la dénaturation. On pourrait imaginer par exemple que la destruction de la structure en double-hélice d'une part, et la séparation des deux brins, d'autre part, constituent deux étapes de la transition qu'il est nécessaire de distinguer dans une théorie de l'absorption ultrasonore.


$\frac{\Delta\alpha}{N^2} \cdot 10^{17}\,(cm^{-1}\,sec^2)$
0,15 M Na Cl 25° C
(•) V 281
A
B
20
15
10
5
0
5
10
15
20
25
N(MHz)

Cette conclusion pourrait signifier que les mesures d'absorption ultrasonore sont particulièrement aptes à distinguer certaines étapes de la dénaturation ; les résultats mériteraient donc d'être confirmés, et si possible généralisés.

CONCLUSION GENERALE

Dans la première partie de ce travail, consacrée à l'étude des polymères présentant deux décroissances successives de la quantité α_{sp}/C en fonction de la fréquence, nous avons établi un critère qui a permis de montrer que les spectres obtenus antérieurement n'étaient pas compatibles avec des processus de relaxation. Le spectre d'absorption ultrasonore que nous avons déterminé de notre côté sur une solution benzénique de polyméthacrylate de méthyle, en effectuant avant chaque mesure d'absorption un étalonnage précis de l'interféromètre, confirme ce résultat. Par ailleurs, les mesures de dégradation ont montré que la masse moléculaire de l'échantillon de polyméthacrylate de méthyle n'affecte pas la forme du spectre.

Dans la deuxième partie de ce travail, qui concerne l'absorption ultrasonore des solutions d'acide désoxyribonucléique, les résultats des mesures de spectroscopie montrent que la quantité α_{sp}/C décroit d'une façon monotone en fonction de la fréquence ; ce résultat obtenu en effectuant des étalonnages précis avant chaque mesure d'absorption, diffère du résultat précédent montrant un maximum dans la variation de α_{sp}/C en fonction de la fréquence. La dénaturation alcaline de l'acide désoxyribonucléique a pu être suivie par des mesures d'absorption ultrasonore. Nous avons observé un maximum dans la variation de la quantité $\alpha/_{\nu}2$ en fonction du pH. Ce maximum peut être attribué à un équilibre qui existe entre deux formes de la molécule au cours de la transition. Il ne semble pas toutefois que le maximum ait lieu à la mi-transition, de sorte que les modèles simples à deux états utilisés dans le cas des polypeptides pour rendre compte de cet excès d'absorption ne peuvent être utilisé ici.

Cette conclusion pourrait signifier que les mesures d'absorption ultrasonore sont particulièrement aptes à distinguer certaines étapes de la dénaturation.

LEGENDES DES FIGURES

page précédente

Figure 1. Variation de la somme de deux termes de relaxation avec la fréquence. Les amplitudes des deux termes de relaxation sont les mêmes pour les deux courbes, seules les fréquences de relaxation sont différentes d'une courbe à l'autre. 8

Figure 2. Variation de la somme de deux termes de relaxation avec la fréquence. Les fréquences de relaxation des deux termes de relaxation sont les mêmes pour les deux courbes, seules les amplitudes sont différentes d'une courbe à l'autre. 9

Figure 3. Définitions adoptées pour le calcul. N_{i1} et N_{i2} sont respectivement la première et la troisième fréquence d'inflexion, P_1 et P_2 sont les pentes pour ces fréquences. 9

Figure 4. Variation des fréquences d'inflexion (N_i) de la courbe $y=f(N)$ en fonction de $1/N_{r1}$ pour différentes valeurs de A. 11

Figure 5. Variation du rapport P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1} pour différentes valeurs de A. Les courbes correspondant à une valeur de A donnée ont été obtenues en faisant varier N_{r1} dans le domaine où la courbe $y=f(N)$ présente trois points d'inflexion. 12

Figure 6. Valeurs de P_1/P_2 en fonction de N_{i2}/N_{i1} déterminées à partir de certains spectres d'absorption ultrasonore obtenus pour des solutions de hauts polymères. (Les nombres en regard de chaque point représentatif permettent d'identifier ces différents polymères à l'aide du tableau I page 15). 14

Figure 7. Variation du rapport α_1/α_2 en fonction de la concentration d'éthylbenzène dans le benzène, à différentes fréquences. 19

Figure 8. Variation de α_{sp}/C en fonction de la fréquence pour une solution benzénique de PMM(M_w=340.000)de concentration C = 4.10^{-2} g/cm^3 19

Figure 9. Variation de α_{sp}/C en fonction de la fréquence pour trois échantillons de PMM avant et après dégradation ultrasonore. 24

Figure 10. Schéma de l'interféromètre 27

Figure 11. Vue en coupe de la cuve thermostatique, du support du réflecteur et de la plaque orientable 27

Figure 12. Vue de dessus de la cuve thermostatique 27

Figure 13. Valeurs de $\alpha/_N 2$ pour différents mélanges eau-glycérine à 5°C. 33

Figure 14. Variation du rapport α_1/α_2 (où α_1 est le coefficient d'absorption ultrasonore du mélange eau-glycérine et α_2 celui de l'eau) en fonction de la concentration de glycérine dans l'eau, à différentes fréquences. 33

Figure 15. Variation de α_{sp}/C entre 3,5 et 21 MHz pour quatre échantillons d'ADN natif. 36

Figure 16. Variation de α_{sp}/C entre 3,5 et 57,6 MHz. pour l'échantillon V212 37

Figure 17. Variation de α_{sp}/C entre 3,5 et 21MHz pour l'échantillon V281 en solution à deux forces ioniques différentes 37

Figure 18. Variation de α_{sp}/C entre 3,5 et 21MHz pour l'échantillon V281 avant et après dégradation 37

Figure 19. Variation de α_{sp}/C entre 3,5 et 21MHz pour l'échantillon V281 avant et après dénaturation 37

Figure 20. Variation de α/N^2 au cours de la dénaturation alcaline de l'échantillon V281 en solution à 0,30g/100ml 41

Figure 21. Variation de α/N^2 au cours de la dénaturation alcaline de l'échantillon V236 en solution à 0,30g/100ml (●) et à 0,27g/100ml (○). 42

Figure 22. Variation du pouvoir rotatoire spécifique au cours de la dénaturation de l'échantillon V281 en solution à 0,28g/100ml 42

Figure 23. Variation du pouvoir rotatoire spécifique au cours de la dénaturation de l'échantillon V236 en solution à 0,28g/100ml 42

Figure 24 Variation de $\alpha/_N 2$ entre 3,5 et 26,2MHz pour l'échantillon V28l en solution à différents pH. 43

Figure 25 Variation de $\alpha/_N 2$ en abaissant puis en augmentant le pH d'une solution d'ADN 44

Figure 26 Variation de l'excès d'absorption à la transition pour l'échantillon V28l en solution à 0,30g/100ml (●). 47

BIBLIOGRAPHIE

(1) R.CERF, R.ZANA et S.CANDAU, Comptes Rendus 252, 681 (1961)

(2) S.CANDAU, R.ZANA et R.CERF, Comptes Rendus 252, 2229 (1961)

(3) R.ZANA, S.CANDAU et R.CERF, Comptes Rendus 254, 1061 (1962)

(4) S.CANDAU, Thèses, Ann.Phys. 9, 271 (1964)

(5) R.LITZLER et R.CERF, Comptes Rendus 257, 3387 (1963)

(6) R.CERF, Acoustica, 13, 417 (1963)

(7) R.ZANA, Thèses, Strasbourg (1964)

(8) R.CERF, J.LANG et S.CANDAU, J.Polymer Sci. PtC.7, 163 (1964)

(9) C.TONDRE et R.CERF, J. Chem. Physique, à paraître.

(10) J.LANG, Thèse de 3è cycle, Strasbourg (1962)

(11) O.FIX, Thèse de 3è cycle, Strasbourg (1963)

(12) P.LEMARECHAL, à paraître.

(13) C.TONDRE et R.CERF, J.Polymer Sci. PtC, 16, 1813 (1967)

(14) F.H.WILLIS, J. Acoust.Soc.Amer. 19, 242, (1947)

(15) R.LITZLER, R.CERF et Ch.SADRON, Comptes Rendus 259, 473 (1964)

(16) R.LITZLER, Thèses, Strasbourg (1967)

(17) J.M.CREETH, J.GULLAND et D.O.JORDAN, J.Chem.Soc.1141 (1947)

(18) S.ZAMENHOF et E.CHARGRAFF, J.Biol. Chem. 186, 207 (1950)

(19) P.EHRLICH et P.DOTY, J.Am.Chem.Soc. 80, 4251 (1958)

(20) G.FRICK, Biochim. Biophys. Acta 8, 625 (1952)

(21) J.SHACK, J.M.THOMPSETT, J.Biol.Chem. 197, 17 (1952)

(22) F.W.STUDIER, J.Mol.Biol. 11, 373 (1965)

(23) R.ZANA, S.CANDAU et R.CERF, J.Chim.Physique 60, 869 (1963)

(24) G.SCHWARZ, J.Mol.Biol. 11, 64 (1965)

(25) G.SCHWARZ, Ber.Bunsenges.Physikal.Chem. 68, 843 (1965)

(26) T.K.SAKSENA, B.MICHELS et R.ZANA, à paraître J.Chimie Phys.

(27) I.PINKERTON, Nature, Lond. 160, 128 (1947)

(28) D.STOLLAR et L.GROSMANN, J.Mol.Biol. 4, 31 (1962)